*Postverlagsort Berlin*

# PLANTA

## ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
**J. BONNER**-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
**R. HARDER**-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

**L. BRAUNER**
MÜNCHEN

**E. BÜNNING**
TÜBINGEN

56. BAND, 5. HEFT
MIT 66 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 11. APRIL 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Planta (Berl.)

*Preis DM 28.60*

# Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*


---

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

*Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität,* oder an

*Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5*


**Springer-Verlag**

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301, Fernschreibnummer 01-83319
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2790 1, Fernschreibnummer 04-61723


---

56. Band — **Inhaltsverzeichnis** — 5. Heft


Seite

KREEB, K., Zur Frage des negativen Turgors bei mediterranen Hartlaubpflanzen unter natürlichen Bedingungen. Mit 3 Textabbildungen . . . . . 479

WERZ, G., Unterschiede der Protoplasten-Strukturierungen bei verschiedenen Dasycladaceen und ihre Abhängigkeit von artspezifischen Kernwirkungen. Mit 19 Textabbildungen . . . . . 490

WANNER, H., und K. BLAIM, Ein Beitrag zur Biosynthese und Physiologie von Kaffein und Trigonellin bei *Coffea arabica*. Mit 5 Textabbildungen . . . . . 499

MITRAKOS, K., Zur Frage nach Beziehungen zwischen Chlorophyllmetabolismus und Photoperiodismus. Mit 4 Textabbildungen . . . . . 511

RÜNGER, W., Über den Einfluß der Stickstoffernährung und der Temperatur während Langtag- und Kurztagperioden auf die Blütenbildung von *Kalanchoe blossfeldiana*. Mit 2 Textabbildungen . . . . . 517

PEVELING, E., Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Zellkernen von *Cucumis sativus* L. Mit 14 Textabbildungen . . . . . 530

MÜLLER, H.-M., Über die Veränderung der chemischen Zusammensetzung von *Scenedesmus obliquus* bei synchroner Kultur im Licht-Dunkel-Wechsel. Mit 10 Textabbildungen 555

LARCHER, W., Jahresgang des Assimilations- und Respirationsvermögens von *Olea europaea* L. ssp. *sativa* HOFF. et LINK., *Quercus ilex* L. und *Quercus pubescens* WILLD. aus dem nördlichen Gardaseegebiet. Mit 9 Textabbildungen . . . . . 575


---


Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 56, 479—489 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Stuttgart-Hohenheim und der Carl Faust-Stiftung in Blanes

# ZUR FRAGE DES NEGATIVEN TURGORS BEI MEDITERRANEN HARTLAUBPFLANZEN UNTER NATÜRLICHEN BEDINGUNGEN

Von

K. KREEB

Mit 3 Textabbildungen

*(Eingegangen am 27. Dezember 1960)*

## A. Einleitung

In einer vorhergegangenen Arbeit (KREEB 1960) konnte gezeigt werden, daß in noch lebenden Blättern abgeschnittener und im Laboratorium ausgelegter Zweige von *Buxus sempervirens* negative Turgordrucke bis zu —65 at auftreten. Auch bei anderen Hartlaubpflanzen ergab sich diese Tendenz, dagegen nicht bei Mesophyten (vgl. KREEB und ÖNAL 1961). Diese besitzen im allgemeinen dann, wenn die Saugspannung den osmotischen Wert erreicht, eine negative $CO_2$-Bilanz, sogar bei anschließend an die Welkung wieder feucht gehaltenen Proben.

In Fortführung der bei Hartlaubpflanzen gefundenen Ergebnisse sollte nun geprüft werden, ob negative Turgorwerte auch unter natürlichen Bedingungen auftreten, und inwieweit diese Erscheinung eine Bedeutung für den Wasserhaushalt der Pflanzen besitzt.

Im Sommer 1960 bot sich die Gelegenheit, unsere Messungen am *Botanischen Garten Marimurtra* in Blanes, Spanien, mit mediterranen immergrünen Xerophyten weiterzuführen[1]. Über das Ergebnis dieser Untersuchungen soll im folgenden berichtet werden.

## B. Zur Methodik

Die *Bestimmung der Saugspannung* erfolgte wie bei KREEB (1960) und KREEB u. ÖNAL (1961) beschrieben, also gravimetrisch unter Berücksichtigung des während der Versuche auftretenden Atmungsverlustes. Da die gesamten Apparaturen einschließlich einer feuchten Kammer nach

[1] Für die Anregung zu diesen Untersuchungen danke ich Herrn Prof. Dr. H. WALTER herzlich, ebenso für seine mir immer und in jeder Hinsicht gegebenen Unterstützung. Ganz besonders zu Dank verpflichtet bin ich dem Präsidium der *Fundacion Carlos Faust*, insbesondere Herrn Präsident MOSER und Herrn Dr. REINHARDT für die Bereitstellung eines Laborraumes in Blanes und für die oft gewährte technische Hilfe, wobei mir Herr Direktor Dr. MARTEN immer mit Rat und Tat zur Seite stand. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglichte diese Arbeit durch eine Reise- und Sachbeihilfe, wofür ich an dieser Stelle meine Anerkennung ausspreche.

Blanes mitgenommen werden mußten, haben wir folgende Vereinfachungen erwogen:

1. Anstelle von 2 Wasserbädern haben wir nur einen Behälter mit etwa 80 Liter Inhalt benützt.

2. Die Temperatur des Wassers wurde auf 30° C gehalten, um eine gewisse Wärmeableitung auch bei Lufttemperaturen über 25° C zu gewährleisten. Dabei kann unter Verwendung eines Kontaktthermometers, das über ein Relais eine elektrische Glühbirne von 100 W steuert, eine ausreichende Temperaturkonstanz erreicht werden.

3. Da es während des $2^1/_2$wöchigen Aufenthaltes in Blanes aus zeitlichen Gründen nicht möglich war, Vorversuche bei den einzelnen Arten anzustellen, haben wir für die Messungen gröbere Abstufungen der Lösungen in den Meßgefäßen gewählt, und zwar bei den 2 Serien, die gleichzeitig liefen, 5, 40, 80 und 130 at bzw. 0,30, 60 und 90 at. So konnten wir sicher sein, daß in jedem Fall die zu messende Saugspannung erfaßbar sein würde.

4. Für die Bestimmung des Anfangs-Trockengewichtes wurde nur 1 Parallelprobe verwendet, die für die Umrechnung benützt wurde. Um gröbere Fehler durch unterschiedlichen Anteil von Festigungsgewebe bei den einzelnen Proben hierbei einzuschränken, haben wir beim Zerschneiden der Blätter in etwa $3 \times 8$ mm große Teilstücke die Mittelrippen im allgemeinen nicht verwendet, ebenso randliche Bezirke, sofern sie äußerlich eine andere Struktur als die mittleren Blattzonen erkennen ließen (z. B. *Quercus coccifera*). Nachträgliche Versuche mit *Hedera helix* ergaben allerdings, daß bei dieser Verfahrensweise unter Umständen doch erhebliche Streuungen auftreten können. Wir wollen jedoch auf diese Frage erst später (vgl. S. 487) näher eingehen.

5. Für die Gewichtsbestimmungen verwendeten wir eine Bunge-Waage mit Luftdämpfung, die bei Benützung eines Reiters rasches Arbeiten ermöglichte. Die Ablesegenauigkeit konnte ohne Schwierigkeit auf $^1/_2$ mg gebracht werden.

In Hohenheim durchgeführte Kontrollmessungen zeigten, daß durch die unter 1.—3. aufgezählten Veränderungen keine abweichenden Saugspannungswerte gegenüber der 1960 beschriebenen Apparatur auftraten. Dies gilt sowohl für Lösungen als auch für Blattproben. Lediglich dann, wenn sich die erhaltenen Meßpunkte nicht zu einer Geraden bzw. Kurve verbinden lassen (Streuungen), ist bei Verwendung großer Abstufungen zwischen den einzelnen Meßreihen die Ablesegenauigkeit bezüglich des Saugspannungswertes gröber als $\pm 1$—2 at. Wir haben diesen Fall bei den später zu besprechenden Abb. 1 und 2 durch ein $\times$ gekennzeichnet.

Dies gilt auch für weniger genaue osmotische Werte (nicht ausreichende Saftmenge), die kryoskopisch bestimmt wurden (vgl. Literaturzusammenfassung bei KREEB 1958).

Da es bei unserer Fragestellung wichtig ist zu wissen, ob die Blätter noch lebend waren, haben wir, wie früher beschrieben (KREEB 1960), den Lichtkompensationspunkt (vgl. LIETH 1959) der sofort verarbeiteten Blätter (LS) und solcher, die 24 Std in einer feuchten Kammer verbrachten (LF), bestimmt. Es war dabei allerdings nicht möglich, alle den Kompensationspunkt beeinflussenden Außenfaktoren wie Temperatur,

Feuchtigkeit und $CO_2$-Gehalt der Luft konstant zu halten[1]. Besonders letzterer wirkt sich ja auf die Photosynthese sehr stark aus und ändert sich unter Umständen schon wesentlich, wenn man sich einige Zeit in einem Laboratorium aufhält. Dies konnte neuerdings auch in Hohenheim bei ähnlichen Versuchen festgestellt werden. Aus diesem Grunde dürfen die entsprechenden Lux-Werte nur größenordnungsmäßig gewertet werden. Wie bereits erwähnt, dienten uns diese Messungen vor allem zur Beantwortung der Frage, ob die $CO_2$-Bilanz der Versuchspflanzen noch positiv oder schon negativ war.

Zur Beschaffung des Versuchsmaterials darf allgemein gesagt werden, daß wir am Wuchsort der Pflanzen Zweige in Plastiksäcke einsammelten und diese dann schnellstens ins Laboratorium transportierten, wo die Blätter sofort verarbeitet wurden. Zwischen der Probenentnahme und dem Beginn der Messungen vergingen im allgemeinen etwa 30—40 min. Erfahrungsgemäß ändern sich die hier gemessenen Werte während dieser Zeit nicht oder nur ganz wenig, wenn man Transpirationsverluste vermeidet. Für die Bestimmung der Saugspannung kamen zerschnittene Blatteile ohnedies schon nach etwa 15—20 min in verschlossene Wägegläser. Ein danach eintretender Wasserverlust ist für die Messung nicht mehr von Bedeutung, weil auch der Wasserdampf im Wägeglas mitgewogen wird.

Da es uns darauf ankam, die Saugspannung von Pflanzen, die unter möglichst extremen Verhältnissen wuchsen, festzustellen, haben wir die Proben stets von trockenen und warmen Lagen (Süd- bis Südwest-Exposition) gesammelt. Bei Bäumen wurden die Blätter von der Seite der Krone genommen, die von der Nachmittagssonne beschienen war, oder, wie z. B. auch bei Sträuchern, aus der Nähe des Bodens, wo höhere Temperaturen herrschten. In der folgenden Übersicht (Tabelle) sind die Pflanzen erwähnt, die untersucht worden sind, und die Witterungsbedingungen[2] während unseres Aufenthaltes in Blanes. Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit beziehen sich auf den Zeitpunkt des Sammelns der Proben und gelten für den Raum, von dem die untersuchten Blätter stammen.

---

[1] Die Temperaturschwankungen während der Messungen betrugen jedoch nur 0—2° C, die absoluten Temperaturunterschiede zwischen verschiedenen Messungen maximal 2,5° C, und die mittlere Temperatur aller Messungen etwa 26° C. Der $CO_2$-Gehalt wurde nicht bestimmt, doch darf angenommen werden, daß im allgemeinen 0,03 Vol.-% vorhanden waren, da das Zimmer, in welchem die Messungen durchgeführt worden waren, durch offenstehende Fenster immer gut gelüftet war.

[2] Die allgemeinen Angaben über den Bewölkungsgrad stimmen gut mit der in der gleichen Zeit von Herrn Priv.-Dozent Dr. O. L. Lange gemessenen Strahlung überein. Für die Überlassung entsprechender Tageskurven möchte ich ihm an dieser Stelle herzlich danken.

Tabelle. *Art und Höhe der untersuchten Pflanzen und allgemeine Angaben zur Witterung und zum Wuchsort*

Außerdem erwähnt ist die während des Sammelns der Proben in der Nähe der verwendeten Blätter festgestellte Temperatur (t) und die relative Luftfeuchtigkeit (r. L.). Es bedeuten: S = Strauch, B = Baum, ○ = sonnig, ◎ = leicht bewölkt, ● = bewölkt, mo = morgens, B. G. = Botanischer Garten, III = südöstlicher B. G., II = mittlerer B. G., s = Steilabfall, C = Campingplatz, K = Kapelle nahe der San Francisco-Bucht, f = felsig, Bl. = Blanes und C. d. S. = Castell de San Juan in 165 m NN.

| Nr. | Datum | Uhrzeit | Species | Art und Höhe der Pflanze | t °C | r.L. % | Witterung | Wuchsort |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 18.8.60 | $16^{35}$ | *Pistacia lent.* . . | S 1 m | 28 | 72 | ○ | oberer B. G. |
| 2 | 21.8.60 | $14^{15}$ | *Pistacia lent.* . | S 1—1,50 m | 26 | 64 | mo ● ab $14^{00}$ ○ | s B. G. III |
| 3 | 22.8.60 | $13^{10}$ | *Olea europ.* . . | B 4 m | 28 | 72 | | K |
| 4 | 22.8.60 | $13^{15}$ | *Quercus suber* . | B 3 m | 28,5 | 63 | ○ | bei K |
| 5 | 23.8.60 | $15^{15}$ | *Rosmarinus off.* | S 80 cm | 28 | 68 | ○ | s C. |
| 6 | 23.8.60 | $15^{20}$ | *Smilax aspera* . | S | 28 | 68 | 11—$13^{00}$ ◎ | s C. |
| 7 | 24.8.60 | $14^{45}$ | *Nerium oleander* | S 1 m | 27,5 | 72 | | B. G. III |
| 8 | 24.8.60 | $14^{40}$ | *Eucalyptus globul.* . . . | B 5 m (Zweige vom Boden) | 37 | 42 | ○ | B. G. III |
| 9 | 25.8.60 | $14^{10}$ | *Myrtus commun.* | S 50 cm | 26 | 71 | bis $12^{00}$ ● | s. G. |
| 10 | 25.8.60 | $14^{05}$ | *Rhamnus alatern.* | S 1 m | 26 | 75 | ab $12^{00}$ ○ | s. B. |
| 11 | 26.8.60 | $15^{30}$ | *Ulex parvifl.* . . | S 50 cm | 37 | 42 | bis $12^{00}$ ● | s n. Bl. |
| 12 | 26.8.60 | $15^{00}$ | *Quercus coccif.* . | S 50 cm | 33 | 52 | ab $12^{00}$ ○ | s n. Bl. |
| 13 | 27.8.60 | $14^{30}$ | *Quercus ilex.* . | B 5 m | 25,5 | 84 | ab $8^{30}$ ○ | B. G. III |
| 14 | 27.8.60 | $14^{45}$ | *Laurus nobil.* . | B 2 m | 26 | 81 | ab $13^{00}$ ○—● | B. B. III |
| 15 | 28.8.60 | $17^{00}$ | *Chamaerops humilis* . . . | B 2 m | 27 | 65 | mo ○ | B. G. III |
| 16 | 28.8.60 | $16^{55}$ | *Arbutus unedo* . | S 3 m | 28 | 59 | ab $12^{00}$ ● | B. G. III |
| 17 | 29.8.60 | $15^{20}$ | *Quercus ilex* . . | B 1,5 m | 26 | 64 | ○ | C. d. S. |
| 18 | 29.8.60 | $15^{30}$ | *Ceratonia siliqua* | S 2 m | 30 | 50 | | C. d. S. |
| 19 | 30.8.60 | $15^{15}$ | *Rubia peregr.* . | S 0—20 cm | 29 | 52 | bis $9^{00}$ ● | nähe C. d. S. |
| 20 | 30.8.60 | $14^{55}$ | *Citrus aurant.* . | B 3 m | ? | ? | ab $9^{00}$ ○—● | B. G. II |

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, zogen des öfteren, vor allem morgens, Wolkenfelder durch das Gebiet von Blanes, so daß bezüglich des Wärmefaktors nicht grundsätzlich von extremen Verhältnissen gesprochen werden kann. In der Nacht zum 28. 8. fiel sogar ganz wenig Regen, und ab 1. 9. setzten auch größere Niederschläge ein. Die relative Luftfeuchtigkeit betrug im übrigen oft mehr als 70%, was als recht hoch angesehen werden muß.

Blanes selbst liegt am Südwestende der Costa Brava. Der Botanische Garten befindet sich oberhalb des Städtchens, unmittelbar an einem felsigen Steilabhang zum Meer bei etwa 50—70 m NN. Der hier allgemein verbreitete Granitverwitterungsboden erinnert oft sehr an Sand-

boden und besitzt nach Angaben des Herrn Direktors Dr. MARTEN eine geringe Wasserkapazität. Sofern die Proben aus dem Botanischen Garten Marimurtra stammen, handelt es sich immer um Stellen, die grundsätzlich nicht oder schon längere Zeit nicht bewässert worden waren.

### C. Ergebnis

In den Abb. 1 und 2 sind die Ergebnisse der Messungen in Säulendiagrammen aufgezeichnet, und zwar zunächst Arten, bei denen kein negativer Turgor gefunden worden ist. Als Reihenfolge bei dieser Darstellung haben wir abnehmende Differenz osmotischer Wert—Saugspannung bzw. zunehmenden negativen Turgor gewählt. Durch diese Anordnung soll natürlich keine artspezifische Tendenz zum Ausdruck gebracht werden. Denn die Frage, warum bei einigen Pflanzen ein negativer Turgor aufgetreten ist, bei anderen aber nicht, kann bei unseren Untersuchungen nicht im einzelnen geklärt werden. Wir dürfen zwar annehmen, daß gewisse Arten diese Fähigkeit besser besitzen als andere. Doch spielen sicher auch Standortsunterschiede, die nicht näher erfaßt worden sind, dabei eine Rolle.

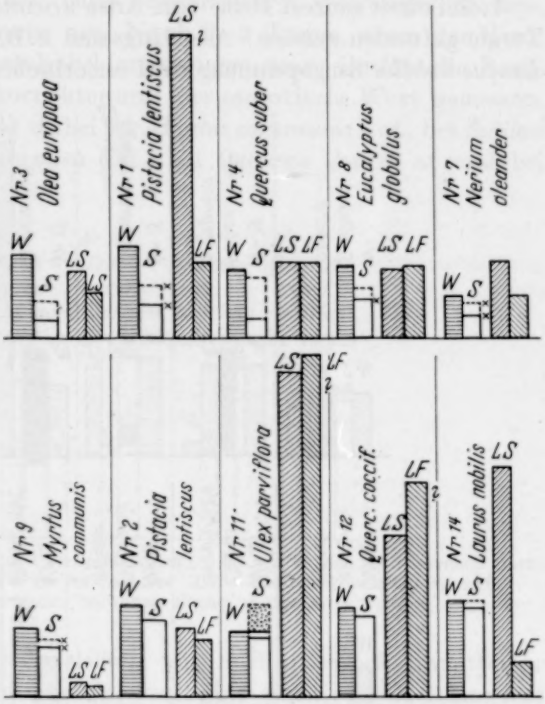



Abb. 1. Osmotischer Wert (*W* und ▤), Saugspannung (*S*) und Lichtkompensationspunkt der untersuchten Blätter bei verschiedenen mediterranen Hartlaubpflanzen unmittelbar nach der Probenentnahme (*LS* und ▨) und nach 24stündigem Aufenthalt in einer feuchten Kammer (*LF* und ▩). Nummern wie in Tabelle 1. Es bedeuten außerdem bei *S*: Säulen mit ausgezogener Randlinie = gesicherte Saugspannungswerte ohne Atmungskorrektur; Säulen mit unterbrochener Randlinie = Saugspannugswerte mit Atmungskorrektur; ▩ = wahrscheinlicher negativer Turgor mit Atmungskorrektur; × = Fehler größer als ±1—2 at; ? = Wert unsicher

Zu Abb. 1—3: Bei der Höhe der Säulen entspricht 1 cm = 20 atm bzw. 1 cm = 1000 Lux bezüglich des Lichtkompensationspunktes

Die Saugspannung ist mit Atmungskorrektur (ausgezogene und gestrichelte Randlinien bei den Säulen) und ohne Atmungskorrektur (nur ausgezogene Randlinien) wiedergegeben. Wenn sie den osmotischen Wert übertraf (negativer Turgor) ist die Differenz Saugspannung—os-

motischer Wert schwarz hervorgehoben worden (gesichert) bzw. punktiert (wahrscheinlicher Wert auf Grund der Atmungskorrektur).

Im einzelnen zeigt sich nun folgendes Bild:

1. Bei einer ganzen Reihe von Arten konnte in Blanes kein negativer Turgor gefunden werden. Allerdings sind z. B. bei *Quercus coccifera* und *Laurus nobilis* Saugspannung und osmotischer Wert annähernd gleich.

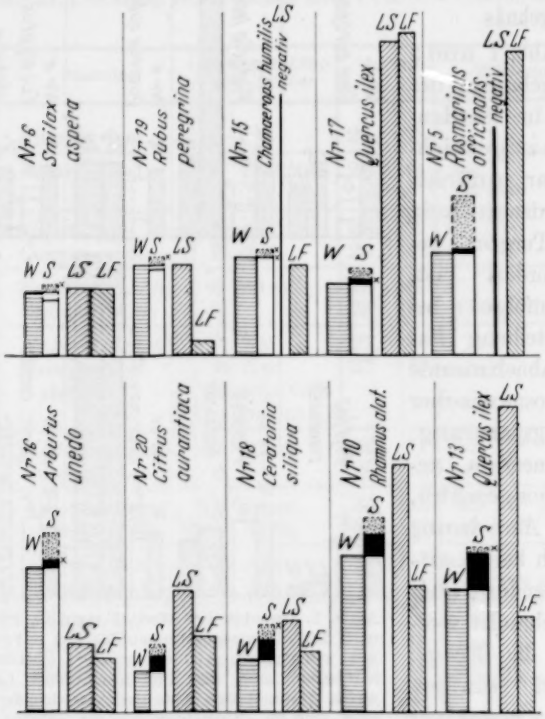



Abb. 2. Erklärungen siehe Abb. 1. Außerdem bedeutet ■ gesicherter negativer Turgor ohne Atmungskorrektur

Bei mehreren Pflanzen war ein geringer negativer Turgor von etwa 2—4 at vorhanden, sicher bei *Quercus ilex* (Nr. 17), *Rosmarinus officinalis* und *Arbutus unedo*, wahrscheinlich auch bei *Ulex parviflora*, *Smilax aspera*, *Rubus peregrina* und *Chamaerops humilis*. *Citrus aurantiaca*, *Ceratonia siliqua*, *Rhamnus alaternus* und *Quercus ilex* (Nr. 13) zeigten hingegen einen recht beachtlichen negativen Turgorwert von mehr als 4 at, der wahrscheinlich noch höher sein dürfte bei Berücksichtigung der Atmungskorrektur.

2. Arten, bei denen kein negativer Turgor gefunden werden konnte, besitzen dennoch die Fähigkeit, einen solchen unter entsprechenden Bedingungen zu bilden. Denn bei dem nach Hohenheim mitgebrachten

Material aus der Macchie in der Nähe von Orange in Südfrankreich (Objekt Nr. 22—28, Abb. 3), das noch nachträglich daraufhin geprüft wurde, ergaben sich ziemlich hohe Werte. Zweige der betreffenden Pflanzen legten wir, wie bei früher beschriebenen Welkungsversuchen, in einem Laboratoriumsraum aus. Nach 2—3 Tagen, wenn der Kompensationspunkt (LS) beträchtlich angestiegen war, wurden die Saugspannung ohne Atmungskorrektur und der osmotische Wert gemessen. Der negative Turgor betrug dabei bei *Myrtus communis* 4 at, bei *Smilax aspera* 30 at, bei *Olea europaea* 6 at, bei *Quercus ilex* 27 at und bei *Quercus coccifera* 20 at.

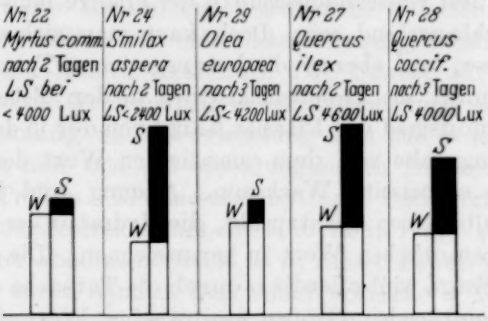



Abb. 3. Osmotischer Wert (*W*) und Saugspannung (*S*) bei welkenden mediterranen Hartlaubpflanzen. Nummern wie in der Tabelle. *LS* = Lichtkompensationspunkt der untersuchten Proben. Schwarze Säulen = negativer Turgor

3. Bei den meisten Arten stellten wir in Blanes noch unmittelbar nach der Probenentnahme am Wuchsort eine positive $CO_2$-Bilanz fest (LS). Wo dies nicht der Fall war, nämlich bei *Chamaerops humilis* und *Rosmarinus officinalis* (dabei ist in Abb. 2 anstelle einer Säule nur ein Strich gezeichnet mit dem Vermerk negativ), war wenigstens nach einem 24stündigen Aufenthalt der Blätter in einer feuchten Kammer ein Kompensationspunkt vorhanden (LF). Alle Arten zeigten demnach noch ein ausgeprägtes Erholungsvermögen und der photosynthetische Apparat war nie permanent geschädigt. Dies kommt auch dadurch zum Ausdruck, daß in fast allen Fällen (Ausnahmen: *Ulex parviflora*, *Eucalyptus globulus* und *Quercus coccifera*) der Lichtkompensationspunkt der feucht behandelten Proben (LF) günstiger liegt als der Lichtkompensationspunkt zu Beginn des Versuches (LS). Obschon, wie einleitend erwähnt, diese Bestimmungen unter nicht ganz einheitlichen Bedingungen durchgeführt werden konnten, zeigt sich doch, daß bei den Arten, die sicher keinen negativen Turgor aufwiesen (Abb. 1), die Lichtkompensationspunkte (LS und LF) nicht besonders hoch liegen, so bei *Myrtus communis*, *Olea europaea*, *Pistacia lentiscus* (Nr. 2), *Smilax aspera*, *Eucalyptus globulus* und *Quercus suber*. Sobald ein negativer Turgor auftritt oder

wahrscheinlich wird, steigen die Lichtkompensationspunkte an, z. B. bei *Quercus ilex* und *Ulex europaeus*. Bei *Ceratonia siliqua* allerdings betrugen sie trotz starken negativen Turgors nur um 1000 Lux herum. Es kann natürlich nicht erwartet werden, daß der negative Turgordruck direkt die physiologischen Vorgänge in der Pflanzenzelle beeinflußt. Wenn er auftritt, so weist das nur auf eine mehr oder weniger starke Anspannung in der Wasserversorgung der Pflanzen hin. Seine Bedeutung liegt demnach in einer über den osmotischen Wert erhöhten Saugspannung. Ob diese oder der osmotische Wert mehr für die Beeinflussung des $CO_2$-Haushaltes verantwortlich zu machen ist, bleibt nach wie vor ungeklärt. Für den Wassernachschub in der Pflanze muß zwar die Saugspannung ausschlaggebend sein. Doch kann man sich schwerlich vorstellen, wie diese, und ebenso die bei negativem Turgor vorhandene Kohäsionsspannung, die Lebensfunktionen in den Zellen beeinflussen soll. Der Quellungsgrad des Plasmas hängt von der in der Vacuole vorhandenen Lösung, also von dem osmotischen Wert des Zellsaftes ab und beeinflußt seinerseits Wachstum, Atmung und Photosynthese. Wir sehen deshalb keinen Ansatzpunkt, die Hydratur der Pflanze anders als durch den osmotischen Wert zu kennzeichnen. Die experimentelle Lösung dieser Frage wird allerdings durch die Tatsache erschwert, daß die in Frage kommenden Größen (osmotischer Wert, Saugspannung, Turgor) sich meistens gleichzeitig ändern und somit nicht getrennt voneinander betrachtet werden können.

## D. Diskussion

Bei den hier besprochenen Untersuchungen bestätigte sich die Vermutung, daß negative Turgorwerte auch am natürlichen Wuchsort mediterraner Hartlaubpflanzen während der sommerlichen Trockenzeit auftreten. Bei einigen Arten, welche keinen negativen Turgor zeigten, konnte nachträglich festgestellt werden, daß bei Welkungsversuchen die Saugspannung bei noch lebenden Pflanzen ebenfalls beträchtlich über den osmotischen Wert anzusteigen vermag. Es liegt demnach hier eine allgemeine Gesetzmäßigkeit vor. Allerdings muß dabei berücksichtigt werden, daß unter den in Blanes herrschenden Bedingungen, die als nicht besonders extrem bezeichnet werden können[1], vor allem auch nicht während unseres Aufenthaltes (vgl. Tabelle), nur etwa 35% der untersuchten Arten geringen bis stärkeren negativen Trugor aufwiesen. Dies trifft zu, obwohl die Proben von extremen Standorten stammten (stark geneigte, zum Teil felsige Südhänge, trockener Boden). In Durchschnittsjahren und unter normalen Verhältnissen scheint demnach negativer Turgor keine übermäßige ökologische Bedeutung für die Pflanzen im nördlichen mediterranen Klimagebiet zu besitzen.

[1] Witterungsdaten liegen von Blanes nicht vor.

Sie haben jedoch die Möglichkeit zu starken Saugspannungsänderungen, sofern dies unter extremen Bedingungen nötig wird, auf Grund des entstehenden negativen Turgors. Vielleicht darf diese „potentielle" Eigenschaft mit als eine Anpassung an regelmäßig auftretende Trockenzeiten angesehen werden. Dadurch würde auch die xeromorphe Struktur der Blätter immergrüner Hartlaubpflanzen verständlich werden.

Bei den hier vorliegenden Untersuchungen haben wir lediglich den Anteil des Saugspannungswertes, der ohne Atmungskorrektur erhalten worden ist, als gesichert angesehen. Denn die Atmungswerte, die wir auf Grund unserer Ergebnisse errechnet hatten (Milligramm Trockensubstanzverlust pro Gramm Trockensubstanz und Stunde bei 30° C), zeigten in vielen Fällen eine erhebliche Streuung, weshalb wir auf die Wiedergabe dieser Zahlen verzichten. Die Ursache für die dabei festgestellte sehr starke Schwankung in der Atmungsintensität dürfte wohl auf die Umrechnung unter Verwendung von nur einer Parallelprobe zurückzuführen sein und auf einen ungleichen Trockensubstanzgehalt der einzelnen Proben. Die dadurch bedingte Unsicherheit kann allerdings die Atmungskorrektur als solche nicht in Frage stellen; lediglich die Angabe ihrer absoluten Größe ist in diesen Fällen unmöglich. Atmungsverluste waren nämlich fast immer vorhanden. Nur in etwa 9% aller Messungen wurde kein Substanzverlust gefunden. Außerdem sprechen die bei fast allen Arten einheitlichen Korrekturwerte von 0—5 at dafür, daß die hier angegebenen gesicherten Saugspannungswerte um mehrere at zu tief sein dürften. Dies entspräche auch der Atmungskorrektur bei *Kartoffeln* (Kreeb u. Önal 1961), die bei einem Welkungsversuch unter Verwendung mehrerer Parallelproben für die Errechnung des Anfangstrockengewichtes festgestellt worden ist. Die hier angegebenen höheren Saugspannungswerte mit Berücksichtigung der Atmungskorrektur sind demnach wahrscheinlich richtig, wenngleich nicht zu sichern.

Ganz besonders hoch war die Differenz Saugspannung (korrigiert)—Saugspannung (unkorrigiert) bei *Rosmarinus officinalis*, nämlich 14 at. Da bei den sofort untersuchten Blättern kein Kompensationspunkt mehr festgestellt werden konnte, wäre bei Berücksichtigung aller sonstigen Umstände dieser Wert denkbar. Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben zu klären, ob die Substanzverluste tatsächlich so erheblich sein können und inwieweit Schwankungen in der Intensität der Atmung bei unterschiedlicher Hydratur in den Meßgefäßen vorkommen.

Die hier gefundenen Ergebnisse sprechen gegen die bei einigen Autoren (Ursprung und Blum 1928, Buhmann 1935, Chien-Ren Chu 1935/36 und Ursprung und Blum 1947) gemachten Angaben über hohe Saugspannungen bzw. negative Turgordrucke bei Pflanzen, die nicht

unter extremen klimatischen Verhältnissen geprüft wurden (vgl. Walter 1930 und 1931). Andererseits besteht aber auch die Annahme Slatyers (1960) wohl zu Unrecht, wonach negative Wandspannungen grundsätzlich nicht größer als 5—10 at sein könnten. Ob die sehr hohen Werte bei Wüstenpflanzen, die mit der Schardakow-Methode (Schardakow 1956 und 1957, Rehder 1959) von Tyurina (1957) gefunden wurden, richtig sind, erscheint aus methodischen Gründen in gewisser Hinsicht noch fraglich, ebenso wie die angeblich negativen Turgordrucke in Wurzeln von *Stachys silvatica* (Rehder 1960).

## Zusammenfassung

Bei den hier besprochenen Untersuchungen über die Saugspannung, den osmotischen Wert und den Lichtkompensationspunkt mediterraner Hartlaubpflanzen unter natürlichen Bedingungen ergab sich folgendes Resultat:

1. Negative Turgorwerte kommen bei einigen Arten während der sommerlichen Trockenzeit tatsächlich vor.

2. Es kann auf Grund von weiteren Welkungsversuchen angenommen werden, daß grundsätzlich bei allen Hartlaubpflanzen aus Gebieten mit länger dauernder Trockenzeit die Saugspannung vorübergehend den osmotischen Wert zu übersteigen vermag.

3. Bei allen untersuchten Arten war die $CO_2$-Bilanz, zumindest bei anschließend feucht gehaltenen Pflanzen, noch positiv. Gewisse Beziehungen bestehen zwischen der Höhe des Lichtkompensationspunktes und der durch negativen Turgor gekennzeichneten angespannten Wasserversorgung der Pflanzen.

4. Die Größe der Atmungskorrektur konnte bei der hier benützten vereinfachten Methode nicht sicher angegeben werden, da erhebliche Streuungen bei Parallelproben auftraten, die mit großer Wahrscheinlichkeit durch ungleichen Trockensubstanzanteil in den Proben bedingt sind.

## Literatur

Buhmann, A.: Kritische Untersuchungen über vergleichende plasmolytische und kryoskopische Bestimmungen des osmotischen Wertes bei Pflanzen. Protoplasma **23**, 579—612 (1935).

Chien-Ren Chu: Der Einfluß des Wassergehaltes der Blätter der Waldbäume auf ihre Lebensfähigkeit, ihre Saugkräfte und ihren Turgor. Flora (Jena) **130**, 384—437 (1935/36).

Kreeb, K.: Die Bedeutung der Hydratur für die Kontrolle der Wasserversorgung bei Kulturpflanzen. Habil.-Schr. Stuttgart-Hohenheim 1958, Auszug z.Z. im Druck in Beitr. Biol. Pflanz. **36**(1), 57—89 (1961).

— Über die gravimetrische Methode zur Bestimmung der Saugspannung und das Problem des negativen Turgors. I. Mitt. Planta (Berl.) **55**, 274—282 (1960).

—, u. M. Önal: Über die gravimetrische Methode zur Bestimmung der Saugspannung usw. z.Z. im Druck in Planta (Berl.) (1961).

Lieth, H.: Über den Lichtkompensationspunkt der Landpflanzen (2 Mitteilungen). Planta (Berl.) **54**, 530—576 (1960).

Rehder, H.: Versuche zur Bestimmung der Saugkraft mit der Schardakow-Methode. Ber. über das geob. Forschungsinst. Rübel in Zürich für das Jahr 1958, S. 91—110, 1959.

— Saugkraftmessungen an *Stachys silvatica* im frischen und welken Zustand. Ber. dtsch. bot. Ges. **73**, 75—82 (1960).

Schardakow, W. S.: Arb. Akad. Wiss. Usbek. SSR. Taschkent, 1956 u. 1957. Ref. von H. Walter, in Fortschr. Bot. **20**, 102 (1958).

Slatyer, R. O.: Aspects of the tissue water relationships of an important arid zone species (*Acacia aneura* F. Muell.) in comparison with two mesophytes. Bull. Res. Council Israel **8** D, 159—168 (1960).

Tyurina, M. M.: The significance of the negative turgor pressure for the water relations of leaves. Bot. Z. **42**, 1035—1042 (1957). [Russisch.]

Ursprung, A., u. G. Blum: Eine Methode zur Messung der Saugkraft an Hartlaub. Bot. Jb. **67**, 334—346 (1928).

— Die osmotische Zustandsgröße der Nadeln von *Pinus silvestris*. Commentationes **11**, 465—634 (1947).

Walter, H.: Saugkraft oder osmotischer Wert. Z. Bot. **23**, 74—93 (1930).

— Besprechung. Z. Bot. **24**, 324—331 (1931).

Dozent Dr. K. Kreeb,
Botanisches Institut der landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim,
Stuttgart-Hohenheim

Planta 56, 490—498 (1961)

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Wilhelmshaven,
Abteilung Hämmerling

# UNTERSCHIEDE DER PROTOPLASTEN-STRUKTURIERUNGEN BEI VERSCHIEDENEN DASYCLADACEEN UND IHRE ABHÄNGIGKEIT VON ARTSPEZIFISCHEN KERNWIRKUNGEN * **

Von

Günther Werz

Mit 19 Textabbildungen

*(Eingegangen am 24. Dezember 1960)*

## Einleitung

Die verschiedenen Arten der marinen Dasycladaceen unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich der Form ihrer Gametangien, sondern auch durch die Form ihrer Wirtel und die ihres Stielwachstumes. Bei den Acetabularien werden diese Formunterschiede offenbar durch artspezifische „morphogenetische Substanzen" bedingt (Hämmerling 1943, 1946, Beth 1943, Werz 1955). Zu diesen artverschiedenen Substanzen kommen nichtartspezifische Substanzen hinzu, die erforderlich sind, damit die artspezifischen Substanzen sich auswirken können (Hämmerling 1943, Beth 1943).

Bei Versuchen, näher an Primärvorgänge des Wachstums und der Formbildung heranzukommen, ließen sich bei *Acetabularia mediterranea* in den Wuchszonen Anreicherungen von relativ basischem Protein (Werz 1959) sowie von Ribosenucleinsäure (Werz 1960a) nachweisen, wobei die speziellen Proteine vermutlich den Proteinanteil von RN-Proteiden darstellen (Werz 1960a). Die Verteilung dieser Substanzen ließ keine artcharakteristischen Unterschiede erkennen. Außerdem besitzt das apikale Zellende von *Acetabularia mediterranea* charakteristische Netz-Strukturierungen, deren Textur nach basal aufgelockert ist. Die Strukturen bestehen aus anionischem — wahrscheinlich sulfathaltigem (Clauss, unveröff.) — Polysaccharid und sind offenbar Teil des Wuchsprozesses dieser Art (Werz 1960b).

Die hier mitgeteilten Untersuchungen, die sich auf den Stiel von 7 Arten sowie auf die Wirtel von 6 Arten bezogen, ergaben zunächst, daß für diese Strukturen artspezifische Unterschiede bestehen. Sie wurden daher auf die artverschiedenen ein- und zweikernigen Transplantate zwischen *Acetabularia mediterranea* und *Acetabularia crenulata* ausgedehnt, um einen Einblick zu gewinnen, ob sie auf artspezifische Kernwirkungen zurückzuführen sind.

* Herrn Professor Dr. J. Hämmerling zum 60. Geburtstag gewidmet.

** Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

## Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden die folgenden Arten, die im hiesigen Laboratorium in Kultur gehalten werden, verwendet: die einkernigen *Acetabularia mediterranea*, *A. calyculus*, *A. crenulata*, *A. Wettsteinii*, *A. clavata*, *Dasycladus clavaeformis*, *Batophora Oerstedii* und die vielkernige *Cymopolia barbata* (Werz 1953).

Die unter den von Hämmerling (1944) und Beth (1953) angegebenen Kulturbedingungen (Licht ~2500 Lux, 12 Std täglich; 21° C) in Erd-Schreiberlösung aufgewachsenen Pflanzen (alle, bis auf die Zygotenkeimlinge von *A. mediterranea*, im Stadium kurz vor der Ausbildung von Gametangien) wurden zunächst zur Vermeidung von eventuell auftretenden Strukturverschiebungen in $CO_2$-Schnee eingefroren und 2 Std bei +4° C in Carnoy fixiert. Nach Übertragung der fixierten Pflanzen in 96%igen Alkohol kamen sie über 90%igen Alkohol in 85%igen Alkohol, worin sie solange blieben, bis sie pigmentfrei waren. Dann wurden die Pflanzen über die absteigende Alkoholreihe in Trypsinlösung (1 mg/ml Borat-HCl-Puffer $p_H$ 8; Merck) übertragen, in der sie 2 Std bei 37° C extrahiert wurden. Gleich anschließend wurden die so behandelten Pflanzen mit Azur-I in Borat-HCl-Puffer $p_H$ 8 2 min gefärbt. Nach 1 min Auswaschen des nicht gebundenen Farbstoffes im selben Puffer wurden die Pflanzen mikroskopisch auf ihre Protoplastenstrukturierungen untersucht (Einzelheiten bei Werz 1960b).

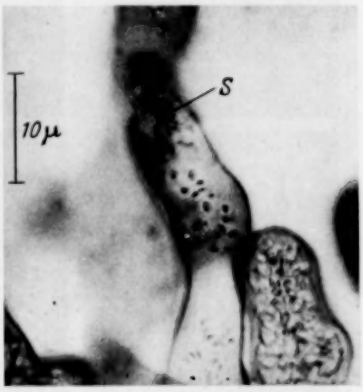



Abb. 1. Acht Tage alte Zygotenkeimlinge von *Acetabularia mediterranea* mit Protoplastenstrukturierungen in den Wuchszonen (*S*)

## Ergebnisse

1. Wenn die Strukturierung des Protoplasten Teil des Wuchsprozesses ist, wie nach den früheren Untersuchungen angenommen werden konnte (Werz 1960b), so sollten bereits junge, wachsende Keimlinge Strukturierungen besitzen. Die Untersuchungen an 8 Tage alten Zygotenkeimlingen von *Acetabularia mediterranea* bestätigen diese Annahme. Schon bei diesen jungen Entwicklungsstadien sind Strukturierungen in der Wuchsregion ausgebildet. Es handelte sich dabei um äußerst feine Netze, die im Lichtmikroskop gerade noch zu erkennen waren (Abb. 1).

2. Bei den Untersuchungen der Stiele von Pflanzen, die kurz vor der Bildung von Gametangien standen, zeigte sich, daß die hierbei in den apikalen Stielregionen gefundenen Strukturen von Art zu Art verschieden ausgeprägt waren (Abb. 2—8). Bei allen untersuchten Arten waren die Strukturierungen wie bei *A. mediterranea* (Werz 1960b) nur am Vorderende der Zellen vorhanden, wiederum mit Texturauflockerung nach hinten.

Relativ grobe Netzstrukturen besaßen die Arten *A. mediterranea* und *A. calyculus*. Bei *A. Wettsteinii* und besonders *A. clavata* waren die Netze wesentlich feiner und bei *Batophora* lichtmikroskopisch fast nicht

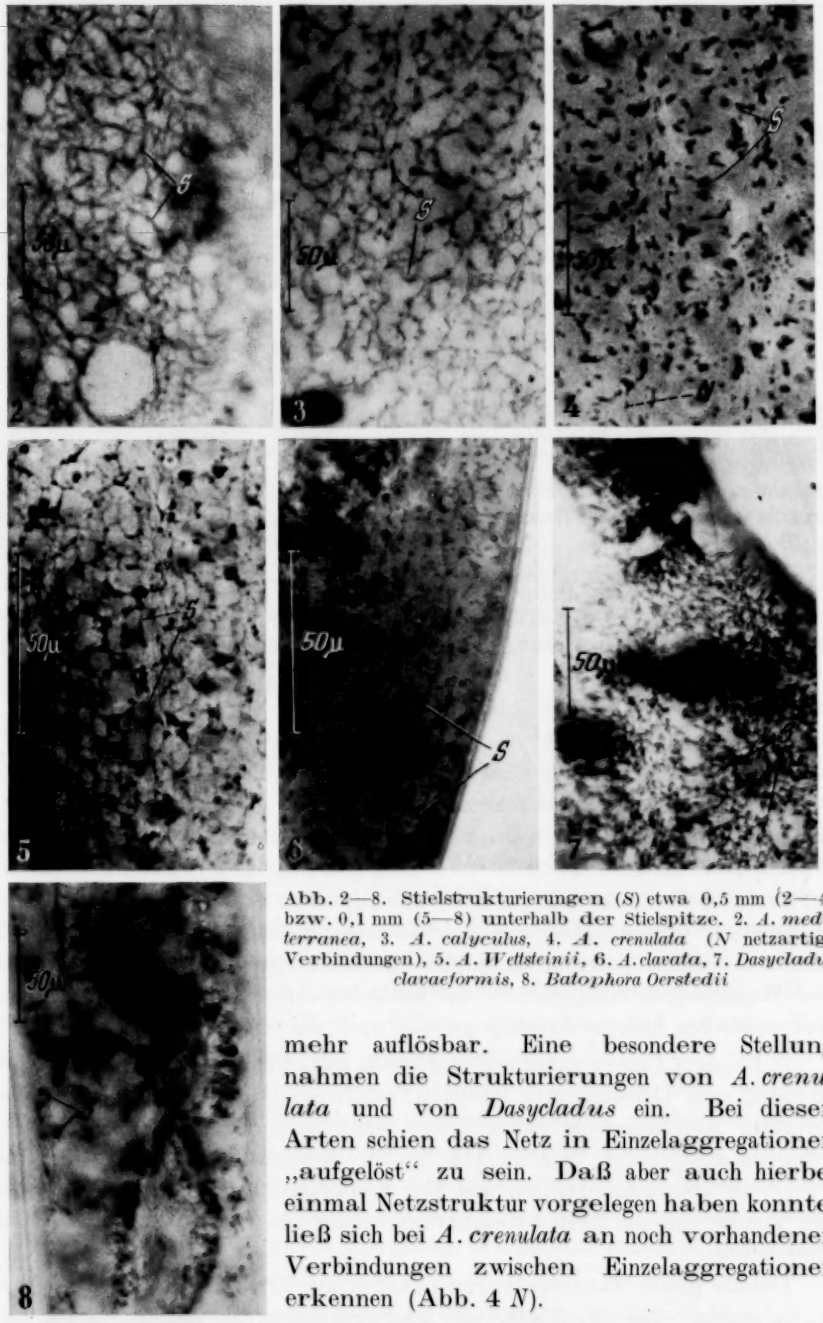



Abb. 2—8. Stielstrukturierungen (*S*) etwa 0,5 mm (2—4) bzw. 0,1 mm (5—8) unterhalb der Stielspitze. 2. *A. mediterranea*, 3. *A. calyculus*, 4. *A. crenulata* (*N* netzartige Verbindungen), 5. *A. Wettsteinii*, 6. *A. clavata*, 7. *Dasycladus clavaeformis*, 8. *Batophora Oerstedii*

mehr auflösbar. Eine besondere Stellung nahmen die Strukturierungen von *A. crenulata* und von *Dasycladus* ein. Bei diesen Arten schien das Netz in Einzelaggregationen „aufgelöst" zu sein. Daß aber auch hierbei einmal Netzstruktur vorgelegen haben konnte, ließ sich bei *A. crenulata* an noch vorhandenen Verbindungen zwischen Einzelaggregationen erkennen (Abb. 4 *N*).

Unterschiede zwischen verschiedenen Arten ließen sich teilweise auch aus dem Ausfall der metachromatischen Reaktion der Struktursub-

stanzen erkennen, wenn sie auch nicht so deutlich wie die Ausprägung der Strukturen waren. Bei den meisten Arten ergaben die Strukturen $\beta$-metachromatische Reaktion. Davon machten die Arten *A. clavata* und *Dasycladus* Ausnahmen. Die erste besaß eine orthochromatisch gefärbte Strukturierung, bei der zweiten war sie $\gamma$-metachromatisch.

Abb. 9 zeigt Ergebnisse aus mikrospektrophotometrischen Messungen an 100 $\mu^2$ großen Stielausschnitten etwa 50 $\mu$ unterhalb der Stielspitzen von verschiedenen Arten. Es zeigte sich, daß die Absorptionsmaxima von *A. mediterranea* (a), *A. calyculus* (b) und *Batophora* (c) entsprechend ihrer $\beta$-Metachromasie in ungefähr gleichen Wellenlängenbereichen lagen. Bei *Dasycladus* (d) mit $\gamma$-metachromatischer Struktur war das Absorptionsmaximum in kürzere Wellenlängenbereiche verschoben.

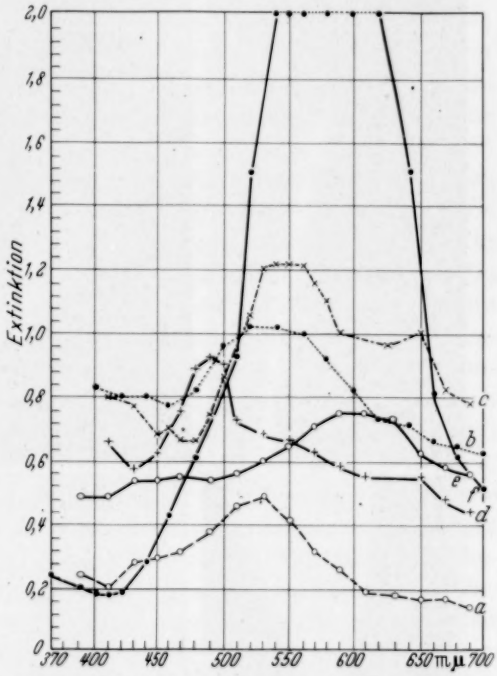



Abb. 9. Mikrospektrophotometrische Messungen an 100 $\mu^2$ großen Stielausschnitten etwa 50 $\mu$ unterhalb der Stielspitzen von *A. mediterranea* (a), *A. calyculus* (b), *Batophora* (c), und *Dasycladus* (d). e—f: Vergleichs-Absorptionskurven von gleich behandelter Cellulose (e) und von 0,01 %iger Lösung von Azur-I in Borat-HCl-Puffer $p_H$ 8, Schichtdicke 10 mm (Spaltbreiten bis 1,8 mm bei $\lambda > 600$ m$\mu$)

Zum Vergleich der Verschiebung der Absorptionsmaxima der $\beta$- und $\gamma$-metachromatisch gefärbten Dasycladaceen-Arten sind in Abb. 9e—f die im Mikrophotometer enthaltenen Absorptionskurven orthochromatisch gefärbter Cellulose (e) sowie von Azur-I-Lösung (0,01 %ig in Borat-HCl-Puffer $p_H$ 8,0) dargestellt. Vergleichsmessungen der Azur-I-Lösung im Beckman-DU-Spektralphotometer ergaben im wesentlichen gleiche Absorptionskurven wie die Messungen im Mikrospektralphotometer. Lediglich bei Wellenlängen $>600$ m$\mu$ war die spektrale Auflösung im Mikrophotometer dadurch geringer, daß mit zu großen Spaltbreiten gemessen werden mußte.

Worauf die Färbeunterschiede beruhen, ist bislang nicht bekannt. Möglicherweise sind sie auf verschiedene Polymerisationsgrade der anionischen Polysaccharide zurückzuführen oder werden durch mehr oder weniger freie Säuregruppen dieser Substanzen bedingt.

3. Artspezifische Unterschiede in der Ausprägung von Protoplastenstrukturierungen zeigten sich auch beim Vergleich der Wirtelstrukturen der in Abb. 10—15 wiedergegebenen 6 Arten. Die Strukturierungen

entsprachen jedoch nicht in allen Einzelheiten den Stielstrukturierungen (vgl. Abb. 2—8). Da in älteren, ausgewachsenen Wirteln Strukturierungen nicht mehr nachweisbar sind (WERZ 1960b), wurden nur die jüngsten Wirtel untersucht.

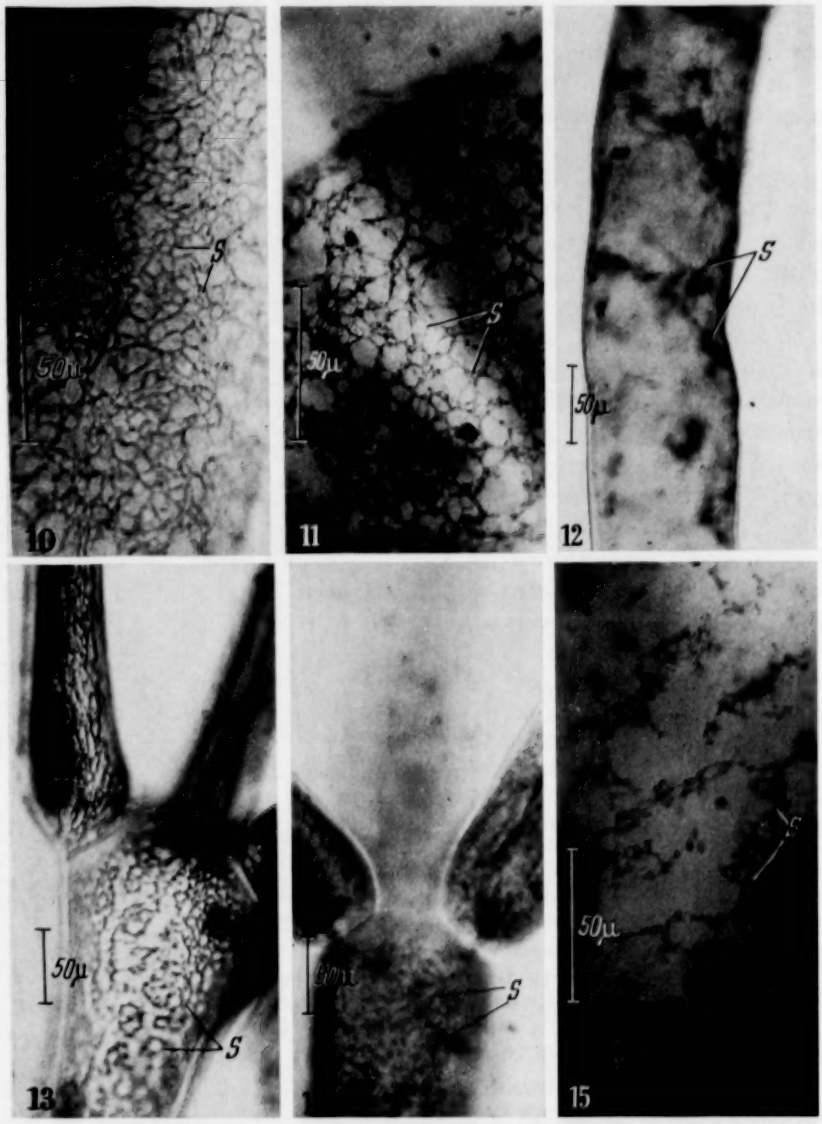



Abb. 10—15. Strukturierungen (*S*) in jungen Wirtelästen von *A. mediterranea* (10), *A. calyculus* (11), *A. crenulata* (12), *Dasycladus* (13), *Balophora* (14) und *Cymopolia* (15).

Netzstrukturen fanden sich in den Wirteln von *A. mediterranea* und *A. calyculus*, sowohl an primären wie an sekundären Wirtelästen. In den Wuchszonen der Wirtel war — analog zur Strukturierung der Wuchszone des Stieles — die Textur des Netzes wesentlich feiner als weiter hinten. Bei *A. crenulata* waren z. T. unterhalb einer schollenförmigen „Struktur" der Wuchszone feinste Netzansätze zu beobachten (Abb. 12 → *S*). Bei *A. Wettsteinii* und *A. clavata* waren Wirtelstrukturierungen nicht erkennbar. Dies dürfte auf einer größeren Empfindlichkeit der anionischen Polysaccharide gegenüber den Vorbehandlungen beruhen, da es doch wohl unwahrscheinlich ist, daß diese Arten in den Wirteln keine Strukturierungen besitzen. Bei *Batophora* (Abb. 14) waren hauptsächlich in den sekundären Wirtelästen netzartige Strukturen, in den primären aber meist Einzelaggregationen festzustellen. Einzelaggregationen fanden sich auch bei *Dasycladus* (Abb. 13). Hierbei waren sie aber teilweise noch in einer Anordnung vorhanden, die an ein Netzwerk erinnert. Bei *Cymopolia* fanden sich in den Wirteln z. T. netzförmige, $\beta$-metachromatisch gefärbte Strukturen (Abb. 15). In den sterilen Hüllschläuchen, die diese Art auszeichnen, waren ebenfalls Netzstrukturen nachweisbar, die aber orthochromatisch gefärbt waren. Danach kann angenommen werden, daß auch das wachsende Stielende strukturiert ist; wegen der Membrandicke und der umgebenden Hüllschläuche konnte sie nicht festgestellt werden.

4. Aus den früheren Untersuchungen an der Art *A. mediterranea* hatte sich ergeben, daß die Bildung der Protoplasten-Strukturierung abhängig ist von kerninduzierten Wuchsprozessen, d. h. von der Wirkung „morphogenetischer Substanzen" (Werz 1960b). Da die Strukturen artverschieden sind, ergab sich die Möglichkeit, durch Herstellung artgleicher und artverschiedener Transplantate zu prüfen, ob ihre Ausprägung von artverschiedenen Kernwirkungen abhängt. Es wurden zwei- und einkernige Transplantate hergestellt. (Über die Technik der Herstellung s. Hämmerling 1943, Beth 1943.) Die Fixierung erfolgte vor der Hutbildung, nachdem etwa 10 mm Stiel regeneriert worden waren. Die Transplantatpartner der zweikernigen Transplantate waren je 10 bis 12 mm lang. Die Strukturierung artgleicher zweikerniger $cren_2$- und $med_2$-Transplantate unterscheidet sich an der Stielspitze und weiter hinten nicht von der der entsprechenden einkernigen Zellen (vgl. Abb. 2 mit 16b und 4 mit 18b). Dagegen stellte die Strukturierung der artverschiedenen $cren_1$ $med_1$-Transplantate unterhalb der Stielspitze ein feines, sehr empfindliches Netzwerk dar (Abb. 17b), das wesentlich feiner als das relativ grobe *med*-Netzwerk war. An der Stielspitze wurde eine schollenartige Struktur gebildet (Abb. 17a), die der von *cren* ähnelte. Es handelt sich also offenbar um ein zwischen den beiden Arten stehendes Produkt. Ob es intermediär ist oder ob eine Prävalenz von *cren* oder *med* vorherrscht, läßt sich nicht sagen.

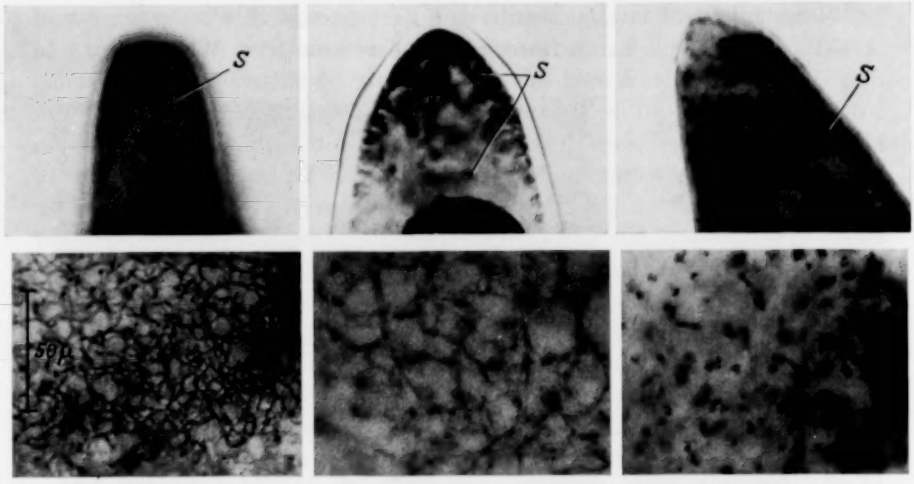



Abb. 16—18. Protoplastenstrukturierungen (*S*) bei zweikernigen Transplantaten; (16) $med_2$ (17) $cren_1med_1$, (18). $cren_2$. a Stielspitze, b etwa 0,5 mm unterhalb der Stielspitze

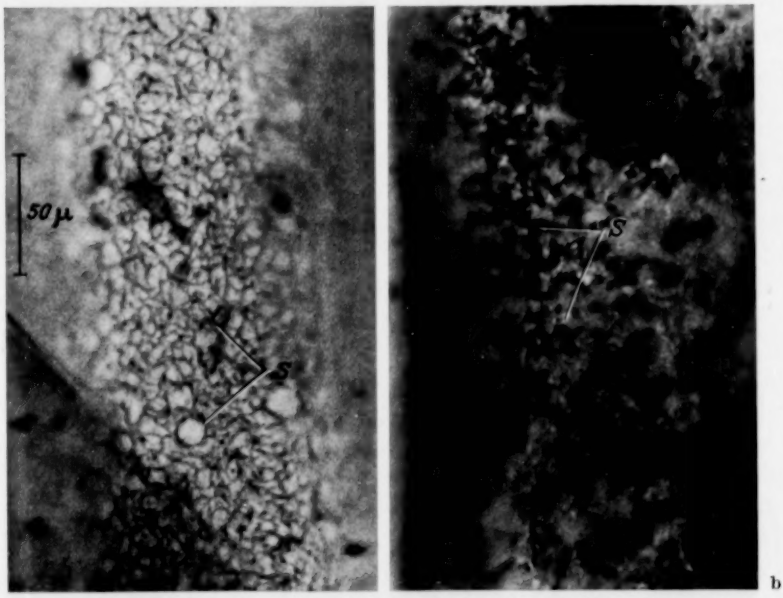



Abb. 19. Protoplastenstrukturierung (*S*) bei einkernigen artverschiedenen Transplantaten. a *med*-mäßige Strukturierung bei $med_1cren_0$. b *cren*-mäßige Strukturierung bei $cren_1med_0$

Außerdem wurden die reziproken einkernigen artverschiedenen Transplantate untersucht. Die kernlosen $cren_0$-Teile waren $\sim$15 mm lang, die kernlosen $med_0$-Stiele $\sim$10 oder $\sim$15 mm lang, sie stammten

aus der hintersten Stielregion, waren also, für sich gehalten, nicht oder kaum regenerationsfähig. Die jeweiligen kernhaltigen Teile besaßen bis zu 1 mm Stiel. Bei den $med_1cren_0$-Transplantaten waren die Strukturen in der Regel wie bei *med* ausgebildet (Abb. 19a), also kerngemäß. In einigen Fällen wurden jedoch auch „Zwischenstrukturen" wie bei den $cren_1med_1$-Transplantaten gefunden.

Bei der reziproken Kombination $cren_1$-$med_0$ war meist die kerngemäße, aufgelöste *cren*-Struktur erkennbar (Abb. 19b), mitunter jedoch ebenfalls die netzige „Zwischenstruktur". In beiden Fällen bleibt, infolge mangelnder Prüfungsmöglichkeit offen, ob die „Zwischenstruktur" später in eine kerngemäße Strukturform übergeht.

## Diskussion

Nach den erhaltenen Befunden ist die Ausprägung der aus anionischem Polysaccharid bestehenden Protoplasten-Strukturierung von Art zu Art mehr oder weniger stark verschieden. Die Anordnung der anionischen Polysaccharide ist als Artmerkmal aufzufassen und Ausdruck der Artspezifität des Wuchsprozesses.

Bereits aus den früheren Untersuchungen (Werz 1960b) hatte sich ergeben, daß die Bildung der Strukturierungen von Wirkungen des Zellkernes abhängig ist. Durch die Befunde an den ein- und zweikernigen Transplantaten zwischen *A. mediterranea* und *A. crenulata* wurde nachgewiesen, daß die *Form* der Strukturierung durch artspezifische Kernwirkungen kontrolliert wird: Entstehung einer „Zwischenstruktur" bei den artverschiedenen, zweikernigen $cren_1med_1$-Transplantaten, Bildung der kerngemäßen Strukturierung in den Regeneraten der einkernigen Transplantate. Artspezifität der Kernwirkung läßt sich somit schon an den Primärvorgängen der Formbildung und des Wachstums nachweisen. Äußerlich morphologisch erkennbar war sie bisher bei den beiden herangezogenen Arten erst an der Form der Hüte, also dem letzten Formbildungsschritt der auswachsenden Teile. Bei den einkernigen Transplantaten entstanden in einigen Fällen die kerngemäßen Strukturierungen nicht sofort, sondern zunächst (?) eine Zwischenstruktur, wie bei den $cren_1med_1$-Transplantaten. Das dürfte daran liegen, daß von den kernlosen Transplantatpartnern noch „Restwirkungen" ausgingen, wie dies auch bei der Hutform solcher Transplantate vorkommt (z. B. Hämmerling 1943, 1946; Beth 1943; Werz 1955).

Die artcharakteristische Ausprägung der Protoplastenstrukturierung ergab sich aus der Anordnung der die Struktur aufbauenden sauren Polysaccharide nach tryptischer Extraktion der Proteine. Es erheben sich hieraus die Fragen, ob die Polysaccharide selbst von Art zu Art verschiedene Strukturierungen besitzen, worauf die Unterschiede im Ausfall der Färbung hinweisen, das Partnerprotein aber nicht artspezifisch

ist, oder ob sie bei allen Arten identisch sind und ihre artcharakteristischen Merkmale durch Anlagerung an ein artspezifisches Partnerprotein erhalten oder schließlich ob sowohl Polysaccharid wie Partnerprotein artspezifisch sind. Die Beantwortung dieser Fragen muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

## Zusammenfassung

Die mitgeteilten Untersuchungen an sieben verschiedenen Arten der marinen Dasycladaceen (Chlorophyceen) ergaben, daß die aus anionischem Polysaccharid bestehende Protoplastenstrukturierung artcharakteristisch ausgeprägt ist. Ihre Bildung gehört zu den Primärvorgängen des Wachstums und der Formbildung. Ihre Form kann als Artmerkmal angesehen werden. Durch Transplantationsversuche wurde gezeigt, daß die Form der Strukturen von artspezifischen Wirkungen des Zellkernes abhängig ist.

## Literatur

Beth, K.: Ein- und zweikernige Transplantate zwischen *Acetabularia mediterranea* und *Acicularia Schenckii*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **81**, 271 (1943).

— Experimentelle Untersuchungen über die Wirkungen des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen *Acetabularia*-Zellen. Z. Naturforsch. **8b**, 334 (1953).

Hämmerling, J.: Ein- und zweikernige Transplantate zwischen *Acetabularia mediterranea* und *Acetabularia crenulata*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **81**, 114 (1943).

— Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. Protistenk. **97**, 7 (1944).

— Neue Untersuchungen über die physiologischen und genetischen Grundlagen der Formbildung. Naturwissenschaften **11**, 361 (1946).

Werz, G.: Über die Kernverhältnisse der Dasycladaceen, besonders von *Cymopolia barbata* (L.) Harv. Arch. Protistenk. **99**, 148 (1953).

— Kernphysiologische Untersuchungen an *Acetabularia*. Planta (Berl.) **46**, 113 (1955).

— Über polare Plasmaunterschiede bei *Acetabularia*. Planta (Berl.) **53**, 502 (1959).

— Anreicherungen von Ribosenukleinsäure in der Wuchszone von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **55**, 22 (1960a).

— Über Strukturierungen der Wuchszonen von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **55**, 38 (1960b).

Dr. G. Werz,
Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. Hämmerling,
Wilhelmshaven, Anton Dohrn-Weg

Planta 56, 499—510 (1961)

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich

# EIN BEITRAG ZUR BIOSYNTHESE UND PHYSIOLOGIE VON KAFFEIN UND TRIGONELLIN BEI *COFFEA ARABICA*

Von

H. Wanner und K. Blaim

Mit 5 Textabbildungen

*(Eingegangen am 13. Januar 1961)*

## Einleitung

In den vegetativen Teilen sowie in den Samen von *Coffea arabica* finden sich in charakteristischer Verteilung (Wanner 1960) das Xanthin-Derivat Kaffein, sowie das Betain Trigonellin. Die beiden Substanzen zeigen in bezug auf das Vorkommen und die quantitativen Veränderungen, z.B. in Abhängigkeit vom Blattalter, eine gewisse Parallelität. Kaffein wie Trigonellin werden in jungen Blättern synthetisiert, mit zunehmendem Alter nimmt ihr Gehalt in den Blättern aber ab.

Sowohl in den Blättern wie in den Samen kommen die beiden Substanzen in gleicher Größenordnung vor. Berücksichtigt man ferner die Tatsache, daß bei der Synthese der beiden Verbindungen gleichartige Reaktionen wie z.B. Methylierungen ablaufen müssen, so ist es nicht überraschend, in der Literatur Angaben über die Möglichkeit stoffwechselphysiologischer Beziehungen zwischen Kaffein und Trigonellin zu finden. So hält Paech (1950) eine Konkurrenz um Methylgruppen bei der Synthese von Kaffein und Trigonellin möglich. Die Mengen der beiden Substanzen müßten sich also am Synthese-Ort gegensinnig verhalten. Wenn solche Beobachtungen nach Paech gemacht worden sind, lassen sie sich auch anders deuten. Die beiden Verbindungen sind z.B. ganz verschieden wasserlöslich, so daß Trigonellin leichter in das Transportsystem und in diesem weiter gelangen könnte als Kaffein. Die von uns festgestellte Verteilung in Blatt und Stengel könnte eine Folge solcher Löslichkeitsdifferenzen sein.

Kremers (1954) glaubt anderseits auf Grund des Vorkommens in der gleichen Größenordnung, daß beide Substanzen aus den entsprechenden Bestandteilen von Pyridin-Nucleotiden stammen könnten. In diesem Falle sollten Veränderungen der Konzentration der einen von gleichsinnigen Veränderungen der Konzentration der andern Substanz begleitet sein. Voraussetzung wäre wiederum, daß keine Komplikationen durch unterschiedliche Translokationsgeschwindigkeiten eintreten.

Wir haben durch Verwendung von $C^{14}$-methyl-markiertem Trigonellin nachweisen können (Wanner et al. 1960), daß von diesem in den *Coffea-*

Blättern keine Übertragung von Methylgruppen erfolgt. Die Methylierung von Nicotinsäure scheint in diesen Blättern ein irreversibler Vorgang zu sein; auf jeden Fall kommt das Trigonellin nicht als Methyldonator für die Kaffein-Synthese in Frage. Wahrscheinlich darf man diese Beobachtung nicht in dem Sinne verallgemeinern, daß das Trigonellin überhaupt nicht mehr in den Stoffwechsel einbezogen werden kann. BLAIM (1960) hat nachgewiesen, daß bei der Keimung von trigonellinführenden Samen die Menge dieses Betains abnimmt und daraus Nicotinsäure entstehen kann. Er stellt die Hypothese auf, wonach in Samen das Trigonellin als Reservesubstanz für Nicotinsäure und ihre Abkömmlinge angesehen werden kann.

Das Problem, welche Rolle im Stoffwechsel des *Coffea*-Blattes Trigonellin und Kaffein spielen und was für Beziehungen zwischen den beiden Substanzen existieren, muß somit bis heute als ungelöst betrachtet werden. WEEVERS (1930) nahm auf Grund verschiedener Beobachtungen an, daß das Kaffein wie auch die anderen methylierten Xanthin-Derivate wieder in den Stoffwechsel einbezogen werden können und betrachtet sie vor allem als Stickstoff-Reservesubstanzen.

Eine für die Stoffwechselphysiologie höherer Pflanzen bisher wenig benutzte Methode zur Lösung solcher Probleme besteht in kinetischen Untersuchungen des Umsatzes von Substanzen, die mit Isotopen markiert sind. Unter bestimmten Voraussetzungen läßt sich damit die Reihenfolge der Glieder einer Reaktionskette bestimmen, Endprodukte können von Zwischenprodukten des Stoffwechsels unterschieden werden, die Umsatzgeschwindigkeit einer Substanz läßt sich ermitteln usw. Sehr häufig werden zwar Isotope zur Markierung von Stoffwechselprodukten verwendet, wie aber REINER (1953) betont, genügt es in keiner Weise, zu *einem* bestimmten Zeitpunkt nach Beginn eines Versuches die spezifische Aktivität von Metaboliten zu bestimmen, um daraus etwa Rückschlüsse auf Reaktionsfolgen ziehen zu können. Für diesen Zweck muß die spezifische Aktivität als Funktion der Zeit bekannt sein (s. auch die Zusammenstellung der mathematischen Methoden bei ARONOFF 1956). Im Gegensatz zu Mikroorganismen können solche Versuche bei Organen höherer Pflanzen kaum exakt durchgeführt werden. Schwierigkeiten bereitet vor allem die Erstellung gleichwertiger Aliquote z. B. von Blättern. Aus der Lamina ausgestanzte Scheiben oder Blatthälften entsprechen den Voraussetzungen nur unvollkommen. Trotzdem lassen sich aber auf Grund einer Kurve der spezifischen Aktivität in Abhängigkeit von der Zeit auch in dieser Weise Erkenntnisse ableiten, die bei einmaliger Probenahme nicht zu erreichen wären.

Die einfachste Methode zur Markierung von Stoffwechselprodukten bei der autotrophen Pflanze besteht in der Fütterung mit $C^{14}O_2$. Die Geschwindigkeit und das Ausmaß der Veränderungen der spezifischen

Aktivität einer Substanz in einem Organ hängt in diesem Falle von Versuchsbedingungen, von der Stellung im Stoffwechselgeschehen im Verhältnis zur Photosynthese und je nachdem auch vom Transport ab.

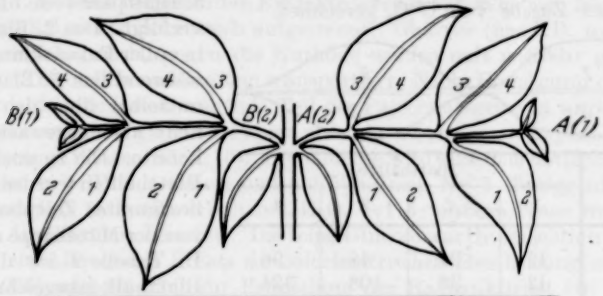
In dieser Mitteilung berichten wir über die Ergebnisse von zwei zeitlich ausgedehnten Versuchen, die wir mit dieser Methode durchführten, um den Verlauf der spezifischen Aktivität für Kaffein und Trigonellin in den Blättern festzustellen.

## Experimentelles

Das Problem, vom Blattmaterial möglichst gleichartige Proben zu verschiedenen Zeitpunkten entnehmen zu können, haben wir durch Verwendung von Blatthälften zu lösen versucht. Die jungen Kaffeepflanzen, mit denen wir arbeiteten, haben

Tabelle 1. *Kaffein- und Trigonellin-Gehalt in Blättern von Coffea arabica (einjährige, im Gewächshaus aufgezogene Pflanzen)*

Stellung der analysierten Blatthälften:




| Blatthälften | | Kaffein | | Trigonellin | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $10^{-3}$ mg | $10^{-3}$ mg/cm² | $10^{-3}$ mg | $10^{-3}$ mg/cm² |
| A(1) | 1 | 934 | 41 | 182 | 8 |
| | 2 | 919 | 40 | 176 | 8 |
| | 3 | 870 | 39 | 214 | 10 |
| | 4 | 840 | 40 | 214 | 10 |
| A(2) | 1 | 815 | 40 | 463 | 23 |
| | 2 | 640 | 32 | 451 | 22 |
| | 3 | 805 | 41 | 574 | 29 |
| | 4 | 805 | 40 | 481 | 24 |
| B(1) | 1 | 900 | 45 | 296 | 15 |
| | 2 | 943 | 48 | 172 | 9 |
| | 3 | 975 | 51 | 208 | 11 |
| | 4 | 809 | 44 | 296 | 16 |
| B(2) | 1 | 919 | 39 | 665 | 28 |
| | 2 | 821 | 34 | 581 | 24 |
| | 3 | 846 | 38 | 665 | 30 |
| | 4 | 895 | 39 | 640 | 28 |

eine sehr regelmäßige dekussierte Blattstellung. Die Gegenblätter sind bei freier Entwicklung der Pflanzen nicht nur flächenmäßig weitgehend symmetrisch, sondern haben oft auch einen nur wenig variierenden Kaffeingehalt. Tabelle 1 gibt einen

Begriff vom Ausmaß der Streuung, mit der man zu rechnen hat. Sie zeigt auch, daß bei Benützung der Blattfläche als Bezugsgröße die Streuung geringer wird.

Bei kinetischen Versuchen mit markierten Substanzen ist nicht der absolute Gehalt, sondern die spezifische Aktivität maßgebend für die Interpretation der Ergebnisse. Wir nahmen an, daß sich dabei die Streuung des absoluten Gehaltes weniger auswirken würde, und versuchten zudem durch Kombination von gleichwertigen Blattpaaren verschiedener Pflanzen einen Ausgleich herzustellen.

In einem *1. Versuch* haben wir 3 gleiche junge Pflanzen von *Coffea arabica* (Sorte „Bourbon") mit 5 Blattpaaren verwendet. Die Pflanzen wurden zusammen in einer Klimakammer unter Fluorescenzlampen bei 20° C mit total 600 $\mu$C $C^{14}O_2$ gefüttert. Nachher verblieben die Pflanzen bei 20° C und einem 12stündigen Licht-Dunkel-Cyclus in einem Klimaraum. Die spezifische Aktivität des Kaffeins in Abhängigkeit von der Zeit wurde im 2. und 5. Blattpaar (von oben gezählt) verfolgt. Das 2. Blattpaar war in voller Entwicklung begriffen, während das 5. Blattpaar (unmittelbar über den Kotyledonen) als ausgewachsen gelten konnte. Die zu analysierenden Blatthälften wurden nach einem bestimmten Zeitplan sorgfältig von der Mittelrippe abgetrennt. In Tabelle 2 ist die Art der Blatthälftenbezeichnung sowie die zeitliche Verteilung der Analysen zusammengefaßt.

Tabelle 2. *Zeitplan für die Analyse der 4 Hälften eines Blattpaares*

Die Tabelle enthält die Zahl der Stunden seit Beginn des Versuches, nach denen die Blatthälfte (ohne Mittelrippe) abgeschnitten und analysiert wurde. Als Versuchsbeginn wird der Zeitpunkt der Zugabe von $C^{14}O_2$ gerechnet.

| Pflanze | Blatthälfte | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| A | 12 | 24 | 48 | 96 |
| B | 12 | 36 | 108 | 324 |
| C | 12 | 48 | 192 | 768 |

Durch die aus der Tabelle 2 ersichtlichen Art der gestaffelten Probenahme hofften wir, die mögliche Wirkung eines Wundeffektes auffinden zu können. Würde die Verwundung der Blätter eine Wirkung auf deren Kaffeingehalt bzw. die spezifische Aktivität haben, so müßte dieser Effekt abhängig sein von der Zeit, die seit dem Abschneiden einer Blatthälfte verflossen ist. Bei gestaffelter Entnahme der Blatthälften würden in diesem Falle unstetige Resultate erhalten werden. Es zeigte sich dann, daß eine solche Wirkung nicht beobachtet werden konnte. Trotzdem z. B. die Blatthälfte 2 bei den 3 verschiedenen Pflanzen nach 24, 36 und 48 Std abgeschnitten wurde, können alle Analysenresultate durch eine stetig verlaufende Kurve in einen Zusammenhang gebracht werden. Die beobachteten Streuungen sind angesichts der geringen Zahl von Versuchspflanzen nicht außergewöhnlich hoch. Für die Analyse auf Kaffein und Trigonellin benützten wir eine nach Kogan et al. (1953) modifizierte Methode.

Die Blatthälften wurden zur Analyse frisch zerkleinert und dann mit angesäuertem (0,05% $H_2SO_4$) kochendem Wasser 20 min ausgezogen, das Material wurde darauf mit MgO versetzt, noch einmal 20 min gekocht und dann filtriert. Die Extrakte wurden alle auf 1,0 ml eingedampft. Zur Entfernung der löslichen Kohlenhydrate wurden die Extrakte zunächst auf Whatman No 3 einer Papierelektrophorese in Boratpuffer ($p_H$ 8,6; 16 Std bei 10 mA und 300 V unterworfen). Das Kaffein wurde darauf noch papierchromatographisch gereinigt (Äthanol:Eisessig:Wasser, 85:5:10). Mit destilliertem Wasser wurde die Substanz aus dem

Papier gelöst, das Eluat auf ein bestimmtes Volumen gebracht und die Konzentration des Kaffeins spektrophotometrisch (BECKMAN, $\lambda = 272$ m$\mu$) ermittelt. Ein Aliquot des Eluats wurde auf einem Glasplättchen eingedampft und die Radioaktivität des Kaffeins direkt in „unendlich dünner Schicht" gemessen. Die Selbstabsorption kann bei den geringen aufgetragenen Mengen ($10^{-2}$ mg/cm$^2$) vernachlässigt werden.

In einem *2. Versuch* haben wir die Analyse auch auf Trigonellin ausgedehnt, ferner wurde noch die spezifische Aktivität der im gleichen Extrakt enthaltenen Glucose ermittelt. Die Saccharose wird durch die Extraktion mit heißer verdünnter Säure und MgO völlig gespalten. In diesem Versuch wurden nur 2 gleiche Pflanzen, wieder mit 5 Blattpaaren, benutzt. Der Zeitplan war bis auf die fehlende 3. Pflanze identisch mit dem des 1. Versuchs, d.h. die letzte Probenahme erfolgte 324 Std nach Beginn des Versuchs. Es wurden unter gleichen Bedingungen wie bei Versuch I 400 $\mu$C $C^{14}O_2$ gefüttert. Die Pflanzen kamen nach Beendigung der Assimilationsperiode (12 Std) in ein Treibhaus (18—25°), wo sie am Tageslicht gehalten wurden. Sie entwickelten sich hier besser als die 3 Pflanzen des 1. Versuches unter Fluorescenzlampen. Die 3 Substanzen isolierten wir in folgender Weise. Aliquote der gleich wie im 1. Versuch hergestellten Extrakte wurden auf Whatman No 3 in Boratpuffer von $p_H$ 8,6 elektrophoretisch aufgetrennt. Glucose (und z.B. auch Aminosäuren) wandert anodisch, gegen die Kathode werden mit ungefähr gleicher Geschwindigkeit Trigonellin und Kaffein transportiert. Nach Beendigung der Elektrophorese wurde der die Basen tragende Teil des Papiers abgetrennt und das Basengemisch direkt auf dem gleichen Papier aufsteigend chromatographisch getrennt (Äthanol:Eisessig:Wasser, 85:5:10). Die Glucose wird aus dem restlichen Elektrophoresestreifen mit Wasser eluiert und auf Whatman No 1 absteigend chromatographisch gereinigt (n-Butanol:Äthanol:$H_2O$, 4:1:5; untere Phase mit 1% Ammoniak zum Äquilibrieren benutzt). Die reine Glucose wurde schließlich mit Wasser ausgezogen, ein Aliquot des Eluats zur colorimetrischen Bestimmung mit Anthron (ARONOFF 1956) und ein Teil zur Ermittlung der Radioaktivität (in „unendlich dünner Schicht") verwendet.

Wir möchten an dieser Stelle der Schweiz. Kommision für Atomwissenschaft danken, da sie durch wesentliche materielle Unterstützung diese Untersuchungen ermöglicht hat. Ein Stipendium der Rockefeller Foundation ermöglichte dem einen von uns (K. B.), an diesen Untersuchungen teilzunehmen. Die Samen von *Coffea arabica*, Sorte Bourbon, aus denen unsere Versuchspflanzen aufgezogen wurden, verdanken wir der Freundlichkeit von Ing. Agr. E. B. GERMECK vom Instituto Agrônomica Sao Paulo in Campinas, Brasil. Frau M. STAMPFLI und Frl. M. WACHS danken wir für ihre gewissenhafte Mithilfe.

## Ergebnisse und Diskussion

Die aus den Kurven der Abb. 1—3 ersichtlichen Ergebnisse der 2 Versuche über die Veränderung der spezifischen Aktivität mit der Zeit zeigen charakteristische Unterschiede für die 3 geprüften Substanzen. In bezug auf das *Kaffein* sei zunächst die gute Übereinstimmung der Kurven von Abb. 1 mit denen des 2. Versuches in Abb. 2 und 3 hervorgehoben. Sowohl in den alten wie in den jungen Blättern steigt die spezifische Aktivität anfänglich rasch, um sich dann asymptotisch einem Endwert (für die gewählte Versuchsdauer) anzunähern. Im Gegensatz zu den Kurven für Trigonellin und Glucose läßt sich innerhalb der Versuchszeiten kein Maximum der spezifischen Aktivität erkennen. Die

jungen Blätter unterscheiden sich von den alten in einer länger anhaltenden Periode starker Zunahme der spezifischen Aktivität, so daß deren Endwert beim jungen Blattpaar um ein Vielfaches höher liegt.

Wie die Abb. 2 und 3 mit den Ergebnissen des 2. Versuches zeigen, verhält sich das *Trigonellin* deutlich verschieden. In den alten Blättern erreicht die spezifische Aktivität des Trigonellins rasch, d.h. innerhalb der ersten 24 Std nach Beginn des Versuches, ein Maximum und sinkt danach innerhalb von 2 Wochen gegen einen Wert, der nur noch wenig über der spezifischen Aktivität des Kaffeins liegt. In den jungen Blättern

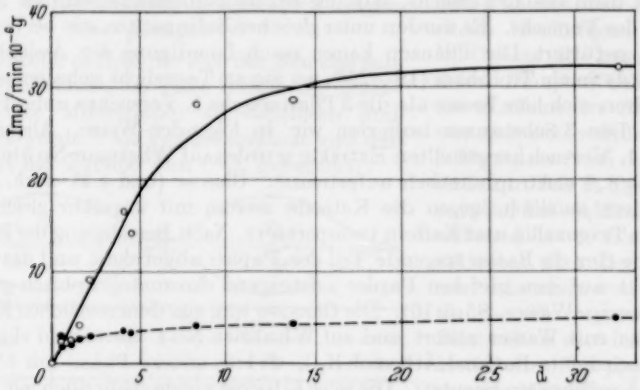



Abb. 1. Die spezifische Aktivität des Kaffeins in jungen (———) und alten (– – –) Blättern einer einjährigen Pflanze von *Coffea arabica* (Versuch I). Abszisse: Tage seit Beginn des Versuches

dauert es über 4 Tage, bis das Maximum der spezifischen Aktivität erreicht wird. Mangels weiterer Meßpunkte ist es hier schwierig, das Maximum zeitlich genau festzulegen. Auffallend ist auch gegenüber den alten Blättern die kaum deutliche Abnahme der spezifischen Aktivität innerhalb der gesamten Versuchsdauer von 2 Wochen. Die *Glucose* (freie und aus Saccharose stammende Glucose) zeigt in den jungen Blättern zunächst ein Ansteigen der spezifischen Aktivität bis zum 2. Tag (möglicherweise bis zum 3. Tag) und sinkt nachher auf einen sehr geringen Wert. In den alten Blättern scheint das Maximum früher erreicht zu werden, ist aber im Verhältnis zum Trigonellin niedrig und wenig ausgeprägt.

Für die Interpretation dieser Kurven ist von folgenden grundsätzlichen Überlegungen auszugehen.

a) Das radioaktive Isotop ist nur während 12 Std am Anfang zugeführt worden.

b) Stoffwechselzwischenprodukte sollten infolgedessen die charakteristische Zeitkurve der spezifischen Aktivität zeigen (s. Zilversmit et al. 1943, Zilversmit und Shore 1952, Reiner 1953), d.h. Zunahme bis

zu einem Maximum und dann Abnahme asymptotisch gegen Null, falls es sich um ein offenes System handelt. Je näher eine Substanz im Stoffwechsel dem zugeführten markierten Kohlendioxyd steht, um so rascher sollte das Maximum erreicht werden und um so höher sollte es sein.

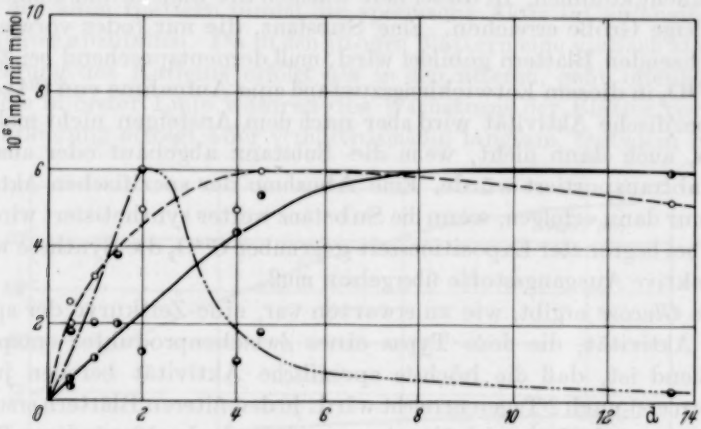



Abb. 2. Die spezifische Aktivität von Kaffein (———), Trigonellin (– – –) und Glucose (— ·· — ·· —) in jungen Blättern einer einjährigen Pflanze von *Coffea arabica*. Abszisse: Tage Versuch II

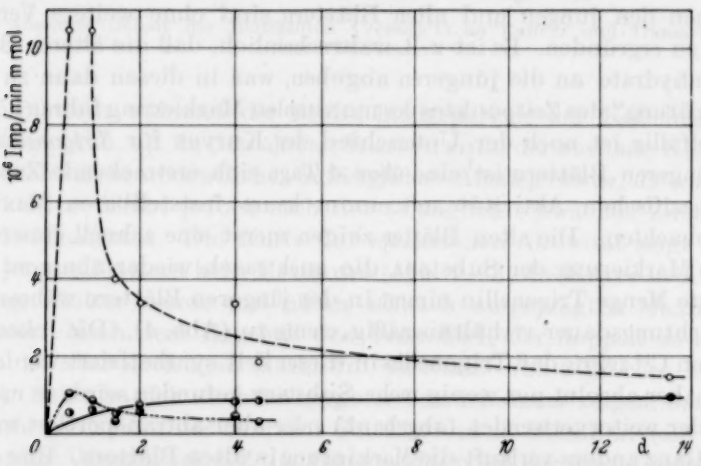



Abb. 3. Die spezifische Aktivität von Kaffein, Trigonellin und Glucose in alten Blättern. Kurvenbezeichnung wie in Abb. 2. Versuch II

Die Kinetik der Markierung von Stoffwechselzwischenprodukten ist vor allem für den Zustand des Fließgleichgewichts („steady state") rechnerisch und mit hydrodynamischen Modellen erfaßt worden. Aber auch unter Verhältnissen, die nicht einem dynamischen Gleichgewicht entsprechen (Lax u. Wrenshall 1953) lassen sich die gleichen

Regelmäßigkeiten bezüglich der zeitlichen Reihenfolge und der relativen Höhe der Maxima beobachten.

Von einem dynamischen Gleichgewicht ihres Stoffwechsels sind nun besonders junge Blätter weit entfernt, wenn Zeiträume von 2—4 Wochen in Betracht kommen. In dieser Zeit wachsen die Blätter und können ihre endgültige Größe erreichen. Eine Substanz, die nur (oder vorwiegend) in wachsenden Blättern gebildet wird, muß dementsprechend bei Zufuhr von $C^{14}O_2$ in diesem Entwicklungszustand eine Aufnahme von $C^{14}$ zeigen. Die spezifische Aktivität wird aber nach dem Ansteigen nicht mehr absinken, auch dann nicht, wenn die Substanz abgebaut oder aus dem Blatt abtransportiert würde. Eine Abnahme der spezifischen Aktivität kann nur dann erfolgen, wenn die Substanz weiter synthetisiert wird und somit bei begrenzter Expositionszeit gegenüber $C^{14}O_2$ die Synthese wieder auf inaktive Ausgangsstoffe übergehen muß.

Die *Glucose* ergibt, wie zu erwarten war, eine Zeitkurve der spezifischen Aktivität, die dem Typus eines Zwischenproduktes entspricht. Auffallend ist, daß die höchste spezifische Aktivität bei den jungen Blättern erst nach 2 Tagen erreicht wird. In den älteren Blättern erscheint das Maximum bedeutend früher, kurz nach Ende der 12stündigen Photosyntheseperiode, ist aber nur wenig ausgeprägt. Die Ursachen des starken Unterschiedes im Ausmaß und in der Kinetik der Markierung von Glucose zwischen den jungen und alten Blättern sind ohne weitere Versuche kaum zu ergründen. Es ist z. B. wahrscheinlich, daß die älteren Blätter Kohlenhydrate an die jüngeren abgeben, was in diesen dann zu einer „Verspätung" des Zeitpunktes der maximalen Markierung führen könnte.

Auffällig ist auch der Unterschied der Kurven für *Trigonellin*. In den jüngeren Blättern ist eine über 4 Tage sich erstreckende Zunahme der spezifischen Aktivität mit einem kaum feststellbaren Maximum zu beobachten. Die alten Blätter zeigen zuerst eine schnell einsetzende starke Markierung der Substanz, die auch rasch wieder abnimmt. Die absolute Menge Trigonellin nimmt in den jüngeren Blättern während der Beobachtungsdauer verhältnismäßig wenig zu (Abb. 4). Die Inkorporation von $C^{14}$ zeigt, daß Trigonellin in dieser Zeit synthetisiert worden ist. Wenn aber absolut nur wenig mehr Substanz gefunden wird, so muß sie entweder weiterverwendet (abgebaut) oder aber abtransportiert worden sein. Ganz anders verläuft die Markierung in alten Blättern. Hier steigt die Aktivität sehr rasch auf eine Höhe, die aus den erhaltenen Resultaten nicht genau bestimmt werden kann, um dann auch rapid wieder abzusinken. Es ist zu vermuten, daß dieser Unterschied gegenüber den jungen Blättern auf einer ganz anderen Markierungsart beruht, die weniger stabil ist. Es sollte dazu allerdings die Verteilung der Aktivität im Trigonellin-Molekül ermittelt werden. Der absolute Gehalt an Trigonellin nimmt

während dieses Entwicklungsstadiums stark ab. Auch hier muß also ein Abtransport oder eine Weiterverarbeitung (Abbau) in Betracht gezogen werden.

Das *Kaffein* zeigt wieder ein anderes Verhalten. Sowohl in den jungen wie in den alten Blättern nimmt die spezifische Aktivität anfänglich zu, ohne später abzufallen. Da in den jungen Blättern eine vielfach stärkere Aktivierung des Kaffeins erfolgt als in den älteren, geht offenbar die Synthese in erster Linie während des Wachstums der Blätter vor sich. Die Markierung erfolgt aber verhältnismäßig langsam, trotzdem in den

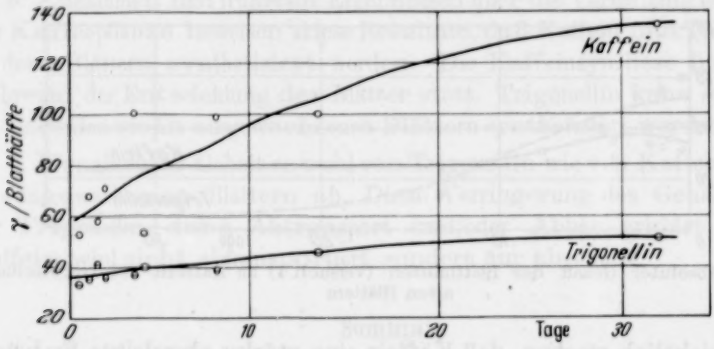



Abb. 4. Absoluter Gehalt der Blatthälften (Versuch I) an Kaffein und Trigonellin in jungen Blättern

jungen Blättern während der Beobachtungsperiode der Kaffeingehalt stark steigt (Abb. 4). In den älteren Blättern sinkt der absolute Kaffeingehalt nach einem undeutlichen anfänglichen Anstieg etwas, die spezifische Aktivität bleibt jedoch nach der anfänglich schwachen Zunahme annähernd konstant. Die Kurve der spezifischen Aktivität zeigt auch in den jungen Blättern kein Maximum (Abb. 1—3; die Kurve in Abb. 2 für junge Blätter wurde mit einem schwach ausgeprägten Maximum gezeichnet. Nach dem Ergebnis des Versuchs I, der doppelt so lange dauerte, ist aber noch kein Maximum innerhalb von 2 Wochen zu erwarten). Sollte es sich auch bei längerer Versuchsdauer zeigen, daß die spezifische Aktivität des Kaffeins im Blatt nicht abnimmt (ein entsprechender Versuch ist z. Z. im Gange), dann ist der einzig mögliche Schluß der, daß die Kaffeinsynthese mit zunehmendem Blattalter allmählich eingestellt wird. Man darf wohl annehmen, die Synthese verlaufe parallel dem Wachstum des Blattes. Es ist schon früher von Weevers (1929) und auch von uns festgestellt worden (Wanner 1960), daß im ausgewachsenen Blatt der Kaffeingehalt mit zunehmendem Alter abnimmt. Im Versuch I ist diese Verminderung des Kaffeingehaltes

zwar vorhanden, aber nicht besonders stark (Abb. 5). Die spezifische Aktivität gestattet keine Entscheidung zwischen den beiden dafür möglichen Erklärungen: Abbau oder Abtransport in andere Pflanzenteile. Auf Grund der Verteilung des Kaffeins im Sproß und innerhalb des Blattes (Wanner 1960) ist eine Translokation unwahrscheinlich.

Die relativ rasche Markierung des Trigonellins im Vergleich zum Kaffein entspricht den Erwartungen auf Grund der „Häufigkeitsregel" (Paech 1950). Während Kaffein zwar in einigen Arten vorkommt, ist es doch bei weitem nicht so verbreitet wie das Trigonellin. Diese verschiedene Häufigkeit zeigt, wie auch die biochemischen Beziehungen das

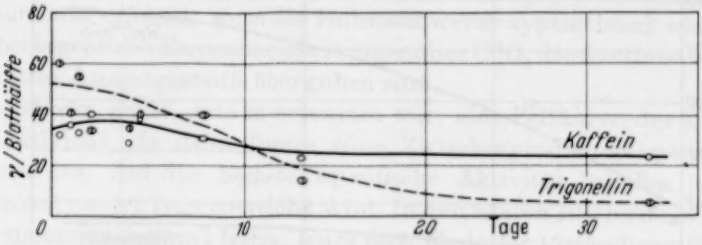



Abb. 5. Absoluter Gehalt der Blatthälften (Versuch I) an Kaffein und Trigonellin in alten Blättern

ja offensichtlich machen, daß Kaffein eine stärker abgeleitete Substanz ist als Trigonellin. Je weiter entfernt vom primären Stoffwechsel ein sekundärer Pflanzenstoff ist, um so stärker verzögert sich der Einbau des Kohlenstoffs aus der Photosynthese, wie das für Kaffein im Verhältnis zu Trigonellin aus unseren Versuchen auch hervorgeht. Selbstverständlich ist es aber nicht möglich, aus dem Verlaufe der Kurven der spezifischen Aktivität nähere Beziehungen zwischen den beiden Substanzen etwa im Sinne der Hypothese von Kremers (1954) zu begründen.

## Zusammenfassung

1. Ganze einjährige Pflanzen von *Coffea arabica* wurden während 12 Std auf photosynthetischem Wege mit $C^{14}O_2$ gefüttert.

Nachfolgend bestimmten wir die absolute Menge und die spezifische Aktivität von Trigonellin, Kaffein und Glucose in den Blättern während 2—5 Wochen. Die Proben bestanden aus vergleichbaren Hälften junger und ausgewachsener Blätter.

2. Die Kurven der spezifischen Aktivität in Abhängigkeit von der Zeit zeigen charakteristische und reproduzierbare Unterschiede für die 3 Substanzen und für die 2 Entwicklungszustände der Blätter.

3. Photosynthetisch fixierter Kohlenstoff wird sowohl in jungen wie in ausgewachsenen Blättern rasch in Trigonellin eingebaut. Die spezifi-

sche Aktivität des Trigonellins steigt in ausgewachsenen Blättern schneller an, sinkt aber auch rascher ab als in wachsenden Blättern.

4. Die spezifische Aktivität der Glucose (freie Glucose und Glucose aus Saccharose) erreicht in jungen Blättern ihr Maximum etwa 48 Std nach Beginn des Experiments. In ausgewachsenen Blättern wird nur wenig $C^{14}$ in Glucose eingebaut.

5. Kaffein wird von den 3 untersuchten Substanzen am langsamsten markiert. Nur in jungen Blättern erfolgt ein deutlicher Einbau von $C^{14}$ in die Kaffein-Molekel.

6. Zusammen mit früheren Ergebnissen über die Verteilung innerhalb der Kaffeepflanze beweisen diese Resultate, daß Kaffein und Trigonellin in den Blättern synthetisiert werden. Die Kaffeinsynthese findet nur während der Entwicklung der Blätter statt. Trigonellin kann sowohl in wachsenden wie in ausgewachsenen Blättern synthetisiert werden.

7. Der absolute Gehalt sowohl von Trigonellin wie von Kaffein nimmt in ausgewachsenen Blättern ab. Diese Verringerung des Gehalts kann für Trigonellin durch Abtransport und/oder Abbau erklärt werden. Kaffein wird nicht abtransportiert, sondern nur abgebaut.


## Summary

Whole young plants were allowed to fix photosynthetically $C^{14}O_2$ for 12 hours. The absolute amount and the specific activity of trigonelline, caffeine and glucose in developing and adult leaves were subsequently determined during up to five weeks. There is a rapid incorporation of photosynthetically fixed carbon into trigonelline in both developing and adult leaves. The specific activity of caffeine however increases to any extent only in young developing leaves. It can be concluded that both trigonelline and caffeine are synthesized in leaves of *Coffea arabica*. Other problems of the metabolism and translocation of the two substances are discussed.


## Literatur


Aronoff, S.: Techniques of radiobiochemistry. Ames: Iowa State Coll. Press 1956.

Blaim, K.: Der Abbau von Trigonellin zu Nicotinsäure in keimenden Samen. Naturwissenschaften **47**, 332 (1960).

—, u. H. Wanner: Trigonellin in Samen und Keimlingen von *Melilotus officinalis*. Naturwissenschaften **47**, 331—332 (1960).

Kogan, L., F. Dicarlo and W. E. Maynard: Determination of caffeine and trigonelline in coffee by paper chromatography. Analyt. Chem. **25**, 1118–1120 (1953).

Kremers, R. E.: Speculation on DPN as a biochemical precursor of caffeine and trigonelline in coffee. J. Amer. Pharm. Ass. **43**, 423—424 (1954).

Lax, L. C., and G. A. Wrenshall: Measurement of turnover rates in systems of hydrodynamic pools out of dynamic equilibrium. Nucleonics **11**, 18—20 (1953).

Paech, K.: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1950.

Reiner, J. M.: The study of metabolic turnover rates by means of isotopic tracers. Arch. Biochem. **46**, 53—99 (1953).

Wanner, H.: Über die Verteilung von Kaffein und Trigonellin in den vegetativen Teilen von *Coffea arabica*. Alkaloid-Symposium Halle (Saale) 1960 (im Druck).

—, H. Kende u. P. Fahrni: Über die Bedeutung des Trigonellins im pflanzlichen Stoffwechsel. Flora (Jena) **149**, 162—166 (1960).

Weevers, Th.: Die Funktion der Xanthinderivate im Pflanzenstoffwechsel. Arch. néerl. Sci. Exp. Nat., Sér. III B **5**, 111—194 (1929).

Zilversmit, D., C. Entenman and M. C. Eishler: On the calculation of turnover time and turnover rate from experiments involving the use of labeling agents. J. gen. Physiol. **26**, 325—340 (1943).

—, and M. L. Shore: A hydrodynamic model of isotope distribution in living organisms. Nucleonics **10**, 32—34 (1952).

Professor Dr. H. Wanner,
Institut für allgemeine Botanik der Universität, Zürich, Künstlergasse 16, Schweiz

Dr. K. Blaim, I.U.N.G., Pulawy, Polen

Planta 56, 511—516 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

# ZUR FRAGE NACH BEZIEHUNGEN ZWISCHEN CHLOROPHYLLMETABOLISMUS UND PHOTOPERIODISMUS

Von

KONSTANTINOS MITRAKOS

Mit 4 Textabbildungen

*(Eingegangen am 22. Dezember 1960)*

Die Frage nach Beziehungen zwischen Chlorophyllmetabolismus und Photoperiodismus ist öfters diskutiert worden. Anlaß dafür gaben gewisse Ähnlichkeiten zwischen dem Wirkungsspektrum für den Photoperiodismus einerseits und dem Absorptionsspektrum für Chlorophyll andererseits (vgl. KAR 1937, PARKER u. Mitarb. 1946, 1950, BORTHWICK u. Mitarb. 1948). Auf Grund dieser Ähnlichkeiten wurde dem Chlorophyll eine direkte oder indirekte Beziehung zur photoperiodischen Induktion zugeschrieben. Nach solchen Überlegungen prüfte KAR (1937) folgende denkbare Beziehungen: 1. Direkter Einfluß der photoperiodischen Behandlung auf die Plastidenfarbstoffe, 2. Nachwirkung der photoperiodischen Behandlung auf die Plastidenfarbstoffe und 3. Beziehung zwischen den Unterschieden im Gehalt an Plastidenfarbstoffen und dem Übergang von vegetativer zu reproduktiver Phase.

KAR fand, daß infolge einer Nachwirkung der photoperiodischen Induktion Kurztagpflanzen unter Kurztag-, Langtagpflanzen unter Langtagbedingungen am meisten Chlorophyll bilden, während tagesneutrale Pflanzen keinen Unterschied zeigten. Später hat BODE (1942) gefunden, daß die Kurztagpflanze *Kalanchoe blossfeldiana* 10—15% mehr Chlorophyll unter Kurztagbedingungen bildet als unter Langtagbedingungen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen SIRONVAL u. Mitarb. (1957, 1958).

CLAUSS (1954) konnte dagegen in Keimlingen von Lang- und Kurztagpflanzen, die entweder eine Hauptlichtperiode und aufgeteilte Zusatzlichtperiode bekommen haben oder unter verschiedenen Licht-Dunkelcyclen herangezogen waren, keinen Unterschied in den Plastidenfarbstoffen finden. CLAUSS u. RAU (1956) fanden bei *Hyoscyamus niger* eine Parallelität zwischen Plastidenfarbstoffen und Blütenbildung, wobei maximale Blütenbildung mit geringerem Farbstoffgehalt gekoppelt ist. v. WITSCH (1959) fand, daß die Blätter der Langtagpflanzen unter Kurztag-, die Blätter der Kurztagpflanzen unter Langtagbedingungen höheren Pigmentgehalt zeigen als die in der blüteninduzierenden Tageslänge gezogenen Vergleichspflanzen.

## Material und Methodik

Als Material diente *Ipomoea coccinea*, weil mit nur einer Dunkelperiode, die länger als 18 Std sein muß, photoperiodisch induziert werden kann (ENGELMANN 1960). Die Samen wurden zunächst mit $H_2SO_4$ (Merck, s. G. 1, 84) 20 min behandelt und anschließend in fließendem Wasser 24 Std lang gequollen. Danach wurden die Samen in Schalen (30 × 40) oder in Töpfen ausgesät. In den Schalen, die für Versuche mit Kotyledonen dienten, wurden 6—7 Reihen zu je 5 Samen ausgesät. In die Töpfe wurden 4 Samen ausgesät und später eine Pflanze mit normalen Blättern verwendet; die 3 schlechter gewachsenen wurden entfernt. Direkt nach der Aussaat wurden die Schalen oder Töpfe in Klimakammern mit konstanter Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Lichtintensität (Dauerlicht) gestellt. Zur Belichtung dienten 6 Osram-Leuchtstoffröhren (3 HNT, 3 HNW). 7—10 Tage später (gerechnet von der Behandlung mit $H_2SO_4$ an) wurde die Dunkelperiode geboten. Meistens wurde gleichzeitig an folgenden 4 Gruppen von Pflanzen der Chlorophyllgehalt bestimmt; I. Pflanzen, die keine Dunkelperiode bekommen haben, II. Pflanzen, die eine 6stündige Dunkelperiode, III. eine 18stündige Dunkelperiode und IV. eine 24stündige Dunkelperiode bekommen haben.

Die Chlorophyllbestimmungen wurden wie bei MITRAKOS (1960) angegeben durchgeführt. Als Bezugssystem galt die Flächeneinheit. Die Extinktionswerte sind nach SMITH und BENITEZ (1954) in Mikrogramm umgerechnet.

## Experimentelle Ergebnisse

Nach den Ergebnissen von ENGELMANN (1960) werden Pflanzen von *Ipomoea coccinea*, die keine oder eine 6stündige Dunkelperiode

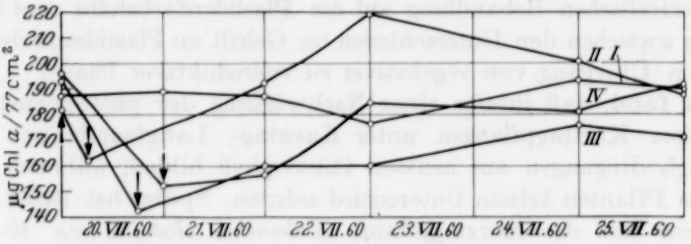



Abb. 1. Verlauf des Gehaltes an Chlorophyll a in Kotyledonen von *Ipomoea coccinea* nach folgendem Belichtungsprogramm: *I* Dauerlicht. *II* Eine 6stündige Dunkelperiode. *III* Eine 18stündige Dunkelperiode. *IV* Eine 24stündige Dunkelperiode. ↑ Anfang der Dunkelperiode, ↓ Ende der Dunkelperiode. Aussaat 13. 7. 60, Temperatur 20 ± 0,5° C, Luftfeuchtigkeit etwa 80, Lichtintensität etwa 1700 Lux

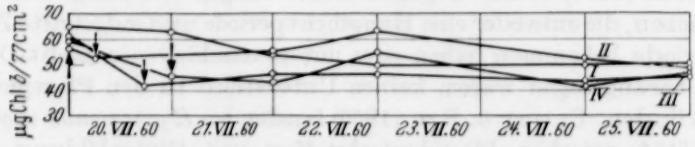



Abb. 2. Verlauf des Gehaltes an Chlorophyll b. Im übrigen wie Abb. 1

bekommen haben, nicht photoperiodisch induziert; dagegen werden Pflanzen, die eine 18stündige oder 24stündige Dunkelperiode bekommen haben, zu einem großen Prozentsatz induziert. Gäbe es einen Zusammenhang zwischen dieser Induktion und dem Chlorophyllmetabolismus,

so sollten die Gruppen I und II einerseits und III und IV andererseits Unterschiede im Chlorophyllgehalt zeigen.

Zunächst wurden Versuche zum Chlorophyllgehalt von Kotyledonen durchgeführt. Die Kotyledonen von *Ipomoea coccinea* sind für Chlorophyllbestimmungen besonders geeignet, weil sie ziemlich homogen wachsen und gleicher Lichtgenuß leicht erreichbar ist. Abb. 1 und 2 zeigen den Verlauf des Gehaltes an Chlorophyll a und b an Kotyledonen

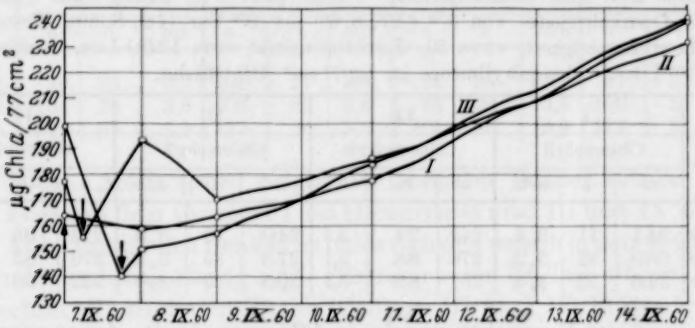



Abb. 3. Verlauf des Gehaltes an Chlorophyll a in Kotyledonen von *Ipomoea coccinea* (Vegetationspunkt abgeschnitten) nach folgendem Belichtungsprogramm: *I* Dauerlicht. *II* Eine 6stündige Dunkelperiode. *III* Eine 18stündige Dunkelperiode. ↑ Anfang der Dunkelperiode, ↓ Ende der Dunkelperiode. Aussaat 29. 8. 60, Temperatur 20° C, Luftfeuchtigkeit 60, Lichtintensität 2400 Lux

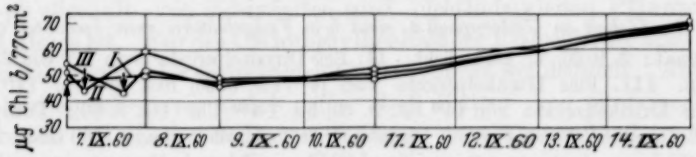



Abb. 4. Verlauf des Gehaltes an Chlorophyll b. Im übrigen wie Abb. 3

von Pflanzen, die keine (I) oder eine Dunkelperiode von 6 Std (II), 18 Std (III) und 24 Std (IV) bekommen haben. Die erste Analyse ist am Anfang, die zweite am Ende der Dunkelperiode durchgeführt worden. Beide Abbildungen zeigen für die Gruppen II, III und IV einen charakteristischen Abfall während der Dunkelperiode. Danach aber nimmt der Gehalt an beiden Chlorophyllen zu, so daß 5 Tage später für Chlorophyll a, 3 Tage später für Chlorophyll b praktisch kein Unterschied zwischen den 4 Gruppen zu sehen ist.

Um den Verlauf des Chlorophyllgehalts mehrere Tage zu verfolgen, wurden 24 Std nach Beginn der Dunkelperiode die Vegetationspunkte abgeschnitten. Sobald ein neuer Vegetationspunkt gewachsen war, wurde er sofort abgeschnitten. Die Ergebnisse eines solchen Versuches zeigen Abb. 3 und 4 entsprechend für Chlorophyll a und b. Auch hier zeigt sich während der Dunkelperiode eine starke Chlorophyllabnahme,

und nach 3 Tagen besteht kein Unterschied mehr in den 3 Gruppen (I, II, III). Neun Tage später zeigen die 3 Gruppen immer noch keinen Unterschied. Nach Tabelle 1 zeigen die 4 Gruppen auch nach 24 Tagen keinen Unterschied im Gehalt an Chlorophyll a und b.

Tabelle 1. *Gehalt an Chlorophyll a und b in Kotyledonen von Ipomoea coccinea verschiedenen Alters (Vegetationspunkt abgeschnitten)*

Aussaat 7. 8. 60. I. Dauerlicht. II. Eine Dunkelperiode von $9^{00}$ bis $15^{00}$ Uhr (17. 8. 60). III. Eine Dunkelperiode von $9^{00}$ (17. 8. 60) bis $4^{00}$ Uhr (18. 8. 60). IV. Eine Dunkelperiode von $9.^{00}$ (17. 8. 60) bis $9^{00}$ Uhr (18. 8. 60). Temperatur $20^{0}$ C, Leuftfeuchtigkeit etwa 80, Lichtintensität etwa 1350 Lux. Analysenzeit jeweils $9^{00}$ Uhr. Chlorophyllmenge in $\mu$g/77 cm² Blattfläche.

| Datum der Analyse | I | | | II | | | III | | | IV | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chlorophyll | | | Chlorophyll | | | Chlorophyll | | | Chlorophyll | | |
| | a | b | a/b | a | b | a/b | a | b | a/b | a | b | a/b |
| 23. 8. 60 | 241 | 71 | 3,4 | 242 | 74 | 3,3 | 240 | 69 | 3,5 | 223 | 68 | 3,3 |
| 26. 8. 60 | 269 | 82 | 3,2 | 276 | 88 | 3,1 | 273 | 85 | 3,2 | 270 | 83 | 3,3 |
| 31. 8. 60 | 316 | 92 | 3,4 | 307 | 89 | 3,4 | 305 | 89 | 3,4 | 322 | 96 | 3,4 |

Bei weiteren Versuchen wurde in Pflanzen, die in der angegebenen Weise belichtet worden sind, nach Beziehungen zwischen Chlorophyllgehalt und photoperiodischer Induktion bei Folgeblättern gesucht. Tabelle 2 zeigt den Gehalt an beiden Chlorophyllen des ersten (20 Tage

Tabelle 2. *Gehalt an Chlorophyll a und b in Folgeblättern von Ipomoea coccinea*

Aussaat: 2. 9. 60. I. Dauerlicht. II. Eine Dunkelperiode von $14^{00}$ bis $22^{00}$ Uhr (9. 9. 60). III. Eine Dunkelperiode von $14^{00}$ (9. 9. 60) bis $8^{00}$ Uhr (10. 9. 60). IV. Eine Dunkelperiode von $14^{00}$ (9. 9. 60) bis $14^{00}$ Uhr (10. 9. 60). Temperatur $20^{0}$ C, Luftfeuchtigkeit etwa 75, Lichtintensität 1. Blatt etwa 1800 Lux, 2. Blatt etwa 1950 Lux. Analysenzeit jeweils $14^{00}$ Uhr. Chlorophyllmenge in $\mu$g/123 cm² Blattfläche.

| Datum der Analyse | I | | | II | | | III | | | IV | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chlorophyll | | | Chlorophyll | | | Chlorophyll | | | Chlorophyll | | |
| | a | b | a/b | a | b | a/b | a | b | a/b | a | b | a/b |
| 1. Blatt 22. 9. 60 | 270 | 70 | 3,9 | 297 | 73 | 4,1 | 287 | 76 | 3,8 | 306 | 72 | 4,2 |
| 2. Blatt 27. 9. 60 | 203 | 53 | 3,8 | 226 | 58 | 3,9 | 193 | 49 | 3,9 | 252 | 61 | 4,1 |

alten) und des zweiten (25 Tage alten) Blattes. Auch hier ist kein Zusammenhang zwischen photoperiodischer Induktion und Chlorophyllgehalt erkennbar. Leider konnten wegen der Variabilität in Höhe und Größe dieser Blätter keine besseren Ergebnisse erzielt werden. Zur Zeit der Chlorophyllbestimmung am zweiten Blatt waren die Blütenknospen an den Pflanzen der Gruppen III und IV leicht zu erkennen (vgl. ENGEL-

Tabelle 3. *Gehalt an Chlorophyll a und b in Folgeblättern von Ipomoea coccinea*

Aussaat: 29. 8. 60. I. Dauerlicht. II. Eine Dunkelperiode von $14^{00}$ bis $20^{00}$ Uhr (7. 9. 60). III. Eine Dunkelperiode von $14^{00}$ (7. 9. 60) bis $8^{00}$ Uhr (8. 9. 60). IV. Eine Dunkelperiode von $14^{00}$ (7. 9. 60) bis $14^{00}$ Uhr (8. 9. 60). Temperatur $20^{0}$ C, Luftfeuchtigkeit etwa 75, Intensität: 1. Blatt etwa 1800 Lux, 2. Blatt etwa 1950 Lux, 3. Blatt etwa 2100 Lux. Analysenzeit jeweils 5. 10. 60 $14^{00}$ Uhr. Chlorophyllmenge in $\mu$g/61,5 cm$^2$ Blattfläche.

| Blatt Nr. | I | | | II | | | III | | | IV | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chlorophyll | | | Chlorophyll | | | Chlorophyll | | | Chlorophyll | | |
| | a | b | a/b | a | b | a/b | a | b | a/b | a | b | a/b |
| 1. Blatt | 86 | 23 | 3,7 | 104 | 27 | 3,8 | 98 | 28 | 3,5 | 87 | 22 | 3,9 |
| 2. Blatt | 104 | 29 | 3,6 | 105 | 29 | 3,6 | 98 | 26 | 3,8 | 106 | 29 | 3,7 |
| 3. Blatt | 116 | 33 | 3,5 | 127 | 36 | 3,5 | 101 | 26 | 3,9 | 121 | 32 | 3,8 |

MANN 1960). Auch später zeigen die normalen Blätter keinen Unterschied zwischen den Gruppen I und II einerseits und III und IV andererseits. Abb. 3 zeigt den Gehalt an Chlorophyll a und b in den 4 Gruppen unserer Versuchsanordnung. Die Pflanzen waren 36 Tage alt und hatten dann schon seit mehreren Tagen (Gruppe III und IV) Blütenknospen.

## Diskussion

Die Ergebnisse zeigen für die Keimblätter deutlich, daß sowohl sofort als auch 24 Tage später nach der photoperiodischen Induktion der Chlorophyllgehalt von induzierten und nichtinduzierten Pflanzen auffallend gleich ist. Für den Chlorophyllgehalt der Folgeblätter sind unsere Ergebnisse wegen der dargelegten Gründe nicht so deutlich. Auf jeden Fall aber sprechen sie nicht dafür, daß Blätter von photoperiodisch induzierten und nichtinduzierten Pflanzen einen Unterschied im Chlorophyllgehalt zeigen.

KAR (1937) hat treffend unterschieden zwischen „direktem Einfluß" und „Nachwirkung" der photoperiodischen „Behandlung". Er konnte nur eine Nachwirkung der photoperiodischen Induktion auf Chlorophyllgehalt finden. Von Interesse sind auch die Ergebnisse SIRONVALS (1957) an *Kalanchoe blossfeldiana*. Nach seiner Fig. 1 bleibt der Chlorophyllgehalt von Pflanzen, die unter 8 Std-Tag aufgezogen sind, für die ersten 160 Tage geringer als von denen, die im 16 Std-Tag aufgewachsen sind. Erst später wird der Chlorophyllgehalt der unter Kurztagbedingungen gezogenen Pflanzen größer.

## Zusammenfassung

Als Material wurde *Ipomoea coccinea* verwendet, die mit nur einer Dunkelperiode genügender Länge photoperiodisch induziert werden kann. Es war keine direkte oder indirekte Beziehung zwischen photoperiodischer Induktion und Chlorophyllbildung feststellbar.

*Nachtrag:* Während der Korrektur erschien eine Arbeit von FRIEND, in der für Weizen grundsätzlich dasselbe Ergebnis mitgeteilt wird.

Meinem Lehrer Prof. Dr. E. BÜNNING danke ich bestens für wertvolle Hilfe.

## Literatur

BODE, O.: Zusammenhänge zwischen $CO_2$-Assimilation und Photoperiodismus bei *Kalanchoe blossfeldiana*. Planta (Berl.) **33**, 278—289 (1943).

BORTHWICK, H. A., S. B. HENDRICKS and M. W. PARKER: Action spectrum for the photoperiodic control of floral initiation of long-day plant, winter barley *(Hordeum vulgare)*. Bot. Gaz. **110**, 103—118 (1948).

CLAUSS, H.: Der Blattfarbstoffgehalt in verschiedenen Licht-Dunkel-Rhythmen gezogener Keimpflanzen. Z. Bot. **42**, 215—245 (1954).

—, u. W. RAU: Über die Blütenbildung von *Hyoscyamus niger* und *Arabidopsis thaliana* in 72-Stunden-Zyklen. Z. Bot. **44**, 437—454 (1956).

ENGELMANN, W.: Endogene Rhythmik und photoperiodische Blühinduktion bei *Kalanchoe*. Planta (Berl.) **55**, 496—511 (1960).

FRIEND, D. J. C.: Control of chlorophyll content by daylength in leaves of Marquis wheat. Can. J. Bot. **39**, 51—63 (1961).

KAR, H.: Über das Verhalten der Plastidenfarbstoffe photoperiodisch reagierender Pflanzen bei verschiedenem Lichtgenuß. Planta (Berl.) **26**, 420—462 (1937).

MITRAKOS, K.: Kurzperiodische Schwankungen im Chlorophyllgehalt von Kotyledonen verschiedener Entwicklungsstadien. Planta (Berl.) **54**, 365—373 (1960).

PARKER, M. W., S. B. HENDRICKS and H. A. BORTHWICK: Action spectrum for the photoperiodic control of floral initiation of the long-day plant *Hyoscyamus niger*. Bot. Gaz. **111**, 242—252 (1950).

— — — and N. J. SCULLY: Action spectrum for the photoperiodic control of floral initiation of short-day plants. Bot. Gaz. **108**, 1—26 (1946).

SIRONVAL, S.: The chlorophyll metabolism, a photoperiodical phenomenon. I. Intern. Congr. Photob. S. 387—395. Torino 1957.

— Day-length and haematin compounds in plants. Nature (Lond.) **182**, 1170 to 1171 (1958).

SMITH, C. H. J., and A. BENITEZ: Chlorophylls: Analysis in plant materials. Modern Methods of Plant Analysis, Bd. IV, S. 142—196. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.

WITSCH, H. v.: Über den Einfluß der Tageslänge auf den Farbstoff- und Aneuringehalt der Blätter von Lang- und Kurztagpflanzen. Z. Bot. **47**, 121—124 (1959).

Dr. KONSTANTINOS MITRAKOS,
Botanisches Institut der Universität, Thessaloniki (Griechenland)

Planta 56, 517—529 (1961)

Aus dem Institut für Zierpflanzenbau der Technischen Hochschule Hannover
(Direktor: Prof. R. Maatsch)

# ÜBER DEN EINFLUSS DER STICKSTOFFERNÄHRUNG UND DER TEMPERATUR WÄHREND LANGTAG- UND KURZTAGPERIODEN AUF DIE BLÜTENBILDUNG VON *KALANCHOE BLOSSFELDIANA*

Von
W. Rünger

Mit 2 Textabbildungen

*(Eingegangen am 20. Januar 1961)*

Der Einfluß mineralischer Ernährung, besonders der Stickstoffernährung auf die Blütenbildung von Kurztag- und Langtagpflanzen ist schon mehrfach Gegenstand von Untersuchungen gewesen (Zusammenf. Murneek 1948, später Knott 1950, Hinnawy 1956). Teilweise, besonders bei einigen Langtagpflanzen, förderte oder beschleunigte Stickstoffmangel das Blühen. Andere Pflanzenarten, so auch *Kalanchoe blossfeldiana* (v. Denffer 1940, Hinnawy 1956), wurden durch reichliche Stickstoffernährung in der Entwicklungsgeschwindigkeit und in der Ausbildung des Blütenstandes begünstigt.

Die Untersuchungen wurden meist so durchgeführt, daß die Pflanzen unterschiedliche Nährstoffmengen vom Beginn bis zum Ende der Versuche erhielten. Dabei werden Einflüsse auf die Gesamtheit der blühbeeinflussenden Prozesse erfaßt. Doch konnte mit unterschiedlichen Wirkungen mineralischer Ernährung in verschiedenen Zeitabschnitten und besonders auf die Blühhemmung unter Langtag- und die Blühförderung unter Kurztagbedingungen gerechnet werden, zumal auch andere Umweltfaktoren hier von unterschiedlichem Einfluß sind (nach Harder 1953, Harder und Bünsow 1954, Schwabe 1956, Wellensiek 1958, 1959 hemmen LT vor, zwischen und nach KT-Perioden bei den KTP *Kalanchoe* und *Perilla* das Blühen; nach Rünger 1956, 1958, 1959; Schwabe 1957; Wellensiek 1958, 1959 ist der Temperatureinfluß bei Blühhemmung und -förderung verschiedenartig). Untersuchungen hierüber und über Wechselbeziehungen zu den Wirkungen anderer Faktoren erschienen geeignet, unsere Kenntnisse über Zusammenhänge zwischen Umweltfaktoren und Blütenbildung zu vergrößern.

## Versuchsmethode

Für die Blütenbildung von *Kalanchoe* sind hauptsächlich die Bedingungen während der KT-Periode und während kurzer Zeitspannen vorher und nachher entscheidend. Variierungen der Ernährung innerhalb dieser Perioden erschienen deshalb richtig. Die Beschränkung auf verhältnismäßig kurze Zeitspannen war auch nötig, weil die Pflanzen trotz verschiedenartiger Stickstoffernährung

möglichst nur wenig in der Größe verschieden sein durften, besonders während der Kurztagperiode.

Die Staffelung der Stickstoffernährung innerhalb kurzer Zeitspannen macht die Verwendung stickstoffarmer Pflanzen nötig, denn nur mit ihnen ist innerhalb einer 20- oder 10-Tageperiode eine Variation zwischen starker Verarmung und größerer Stickstoffanreicherung zu erzielen. Um eine deutliche Stickstoffwirkung zu erreichen, wurde mit stark an Stickstoff verarmten Pflanzen gearbeitet.

Für die Versuche im Sommer und Herbst 1960 wuchsen die Pflanzen der Sorte ‚*Tom Thumb*' in nährstoffreicher Erde, bis sich 6—7 sichtbare Blattpaare und auch Seitentriebe entwickelt hatten. Dann wurden sie aus dieser Erde herausgenommen, die Wurzeln ausgespült und in 8 cm-Töpfe mit einem Gemisch von Sand und Torfmull gepflanzt. Zweimal erhielt jede Pflanze eine abgemessene Menge einer Lösung mit allen Nährstoffen einschließlich der A-Z-Salze nach HOAGLAND, aber ohne Stickstoff. Innerhalb der nächsten Wochen nach dem Umpflanzen hörte das Wachstum allmählich auf und es stellten sich Stickstoffmangelsymptome ein. Die Blätter wurden hell. Einzelne untere Blätter starben ab. Etwa $2^1/_2$—$3^1/_2$ Monate nach dem Verpflanzen, je nach Versuch verschieden, begannen die unterschiedlichen Behandlungen.

Die Stickstoffernährung wurde in kurzen Zeitspannen vor, während und nach der Kurztagperiode variiert (genauere Angaben bei der Beschreibung der einzelnen Versuche). Bis dahin waren die Pflanzen arm an Stickstoff. In einem längeren Zeitabschnitt, der sich der Periode mit gestaffelter Ernährung anschloß, erhielten die Pflanzen aller Versuchsglieder gleiche, verhältnismäßig starke Gaben. Nach Beginn der Ernährung verabfolgten wir jeden 5. Tag allen Pflanzen 30 $cm^3$ der Ammoniumnitratlösung, die während der Periode mit verschiedenartiger Ernährung verschieden konzentriert war.

Die Versuche mit verschieden starken Gaben wurden im Gewächshaus durchgeführt (etwa 20—28°). Während der Kurztagbehandlung erhielten die Pflanzen 9 Std Tageslicht.

Außerdem wurden Versuche mit verschiedener Stickstoffernährung und gestaffelter Temperatur durchgeführt. Die Temperaturbehandlungen erfolgten dabei in Versuchskästen, in denen mit Hilfe von Kühlmaschinen, elektrischer Heizung und Ventilatoren die Temperatur konstant gehalten werden konnte (meist $\pm 0{,}5°$, gelegentlich bis $\pm 1{,}0°$). Das Licht war infolge der doppelten Glaswände der Kästen und der notwendigen Beschattung (Kühlmaschinen bei Sonneneinstrahlung im Sommer zu schwach) schwächer als im Gewächshaus. Die Kurztagbehandlung (9 Std Tageslicht) war hier deshalb weniger wirksam und mußte entsprechend ausgedehnt werden. Langtage wurden hier durch Verlängerung des Neunstundentages mit Leuchtstofflampen auf 15 Lichtstunden erzielt. (Ausführlichere Beschreibung der Versuchskästen s. RÜNGER 1956).

Vor und nach den Behandlungen in den Versuchskästen und den KT-Behandlungen im Gewächshaus standen die Pflanzen unter LT-Bedingungen (etwa 20—28°). Während der Zeit der natürlichen Kurztage wurde mit Glühlampen zusätzlich belichtet.

In der Hauptsache werden Versuche vom Sommer 1960 beschrieben. Wo es nötig erscheint, wird auf Versuche der Jahre 1958 und 1959 zurückgegriffen, bei denen Ammonsulfatsalpeter anstelle von Ammoniumnitrat verwendet wurde (unterschiedliche Wirkungen der beiden Salze waren nicht zu beobachten).

## Die Versuche

**1. Einfluß verschieden starker Stickstoffernährung vor, während und nach der Kurztagperiode.** Zuerst soll der Versuch beschrieben werden, bei dem während

verschiedener Zeitabschnitte unterschiedlich große Stickstoffmengen gegeben wurden und zwar nach folgendem Schema:

Lösungskonzentrationen während der Periode mit unterschiedlicher Ernährung: 0,0, 0,1, 0,5, 2,0 und 3,5 g/l Wasser; anschließend: 2,0 g/l W; KT-Periode: 10 Tage.

Perioden mit gestaffelter Stickstoffernährung:

Gruppe a: 1. = 20.—1. LT, 2. = 6.—10. LT vor KT-Periode
Gruppe b: 1. = 1.—10. KT, 2. = 6.—10. KT
Gruppe c: 1. = 1.—20. LT, 2. = 10.—1. LT nach KT-Periode

Ende der Stickstoffernährung: Gruppe a und b = 40 Tage, Gruppe c = 60 Tage nach KT-Periode.

Da die Kurztagbehandlung nicht gleichzeitig erfolgte, sind Versuchsglieder nur innerhalb, nicht zwischen den Gruppen a, b und c vergleichbar.

Allgemeine Beobachtungen: Mit der Stickstoffernährung, jedoch mit ansteigender Konzentration der Lösung zunehmend, begann wieder das Wachstum und die Pflanzen ergrünten. Bei den Versuchsgliedern mit 0,1 g/l W war das kaum bemerkbar. Selbst nach 20tägiger Ernährung (jeden 5. Tag) ließ sich hier nur ein sehr kleiner Unterschied zu dem Versuchsglied mit 0,0 g/l W äußerlich erkennen. Die Unterschiede im Ergrünen infolge variierter Ernährung erhielten sich noch einige Tage nach dem Beginn gleichartiger Ernährung und glichen sich dann aus. Wachstumsunterschiede waren geringfügig. Sie traten dann aber infolge des verschieden starken Blüheffektes zutage.

Tabelle 1 enthält die den Blüheffekt kennzeichnenden Ergebnisse. Diejenigen der Gruppe a zeigen, daß der Blüheffekt durch Stickstoffgaben vor der KT-Periode verringert wurde, und zwar um so mehr, je früher die Ernährung begann und je höher die Konzentration der Lösung bis etwa 2,0 g/l W war. Das Vergleichsversuchsglied (0,0 g/l W vor der KT-Periode, Stickstoffgaben erst ab 1. KT) zeigte den stärksten Blüheffekt. Bei 20tägiger Vorbehandlung hatte selbst die schwächste Gabe noch eine, wenn auch geringe Abschwächung zur Folge. Die Anzahl der Seitentriebe mit Inflorescenzen war bei 10tägiger Vorbehandlung nicht verschieden. Doch war das bei anderen, hier nicht beschriebenen Versuchen teilweise der Fall (s. auch S. 526).

Die Ursache hierfür dürfte in der von Versuch zu Versuch verschieden starken Wirkung der KT-Periode liegen. Bei starker Wirkung, wie in diesem Versuch, nähern sich die weniger begünstigten den stärker begünstigten Versuchsgliedern. Bei genügend langer und genügend wirksamer KT-Periode kommt es schließlich zum Ausgleich. Zeitliche Unterschiede im Sichtbarwerden der Inflorescenzen bleiben dagegen bestehen.

Während der KT-Periode förderte Stickstoff die Blütenbildung stark, und zwar um so mehr, je höher die Konzentration bis 2,0 g/l W war und beim Ernährungsbeginn am 1. KT mehr als bei dem am 6. KT. Bei dem früheren Ernährungsbeginn wurde schon mit 0,5 g/l W annähernd die Sättigung erreicht. Bei hoher Konzentration hatten Gaben ab 6. KT noch eine relativ günstige Wirkung, die der einer früheren Gabe nahekam. Da bis zum Ende der KT-Periode nur noch 5 Tage verblieben, ist das zunächst überraschend. Wie die Ergebnisse der Gruppe c zeigen, begünstigt Stickstoff auch nach der KT-Periode die

Tabelle 1. *Einfluß verschieden starker Stickstoffernährung vor, während und nach der Kurztagperiode auf die Blütenbildung von Kalanchoe*

a) gleichartige Ernährung (2 g/l W) ab 1. KT
b) gleichartige Ernährung (2 g/l W) ab 1. LT nach KT-Periode
c) gleichartige Ernährung (2 g/l W) ab 21. LT nach KT-Periode

| Beginn der Stickstoffernährung | Lösung konzentriert | Mittlere Anzahl der Seitentriebe mit Inflorescenzen | | Mittlere Anzahl der Blüten am terminalen Blütenstand | | Sichtbarwerden der Inflorescenzen[2] | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g/l Wasser | $\bar{x}$ | $p$-%[1] | $\bar{x}$ | $p$-% | $\bar{x}$ | $p$-% |
| **a) Einfluß des Stickstoffes vor der KT-Periode** | | | | | | | |
| 20 Tage vor der KT-Periode | 0,0 | 15,2 | | 48,5 | | 24,6 | |
| | 0,1 | 13,4 | 0,15 | 34,7 | $<0,10$ | 26,9 | 1,9 |
| | 0,5 | 12,5 | $<0,10$ | 33,6 | $<0,10$ | 32,0 | $<0,10$ |
| | 2,0 | 10,5 | $<0,10$ | 18,2 | $<0,10$ | 39,2 | $<0,10$ |
| | 3,5 | 11,5 | $<0,10$ | 17,0 | $<0,10$ | 40,1 | $<0,10$ |
| 10 Tage vor der KT-Periode | 0,1 | 15,3 | $>5$ | 42,1 | $>5$ | 24,1 | $>5$ |
| | 0,5 | 14,8 | $>5$ | 37,4 | 1,4 | 27,2 | 0,82 |
| | 2,0 | 14,0 | $>5$ | 37,3 | $<0,10$ | 29,7 | $<0,10$ |
| | 3,5 | 15,1 | $>5$ | 39,8 | 1,3 | 29,6 | $<0,10$ |
| **b) Einfluß des Stickstoffes während der KT-Periode** | | | | | | | |
| 1. KT | 0,0 | 2,9 | | 2,1 | | — | [3] |
| | 0,1 | 5,3 | $<0,10$ | 8,3 | 0,70 | 33,4 | — |
| | 0,5 | 12,4 | $<0,10$ | 30,7 | $<0,10$ | 27,6 | $<0,10$ |
| | 2,0 | 13,1 | $<0,10$ | 37,7 | $<0,10$ | 25,9 | $<0,10$ |
| | 3,5 | 13,8 | $<0,10$ | 38,8 | $<0,10$ | 25,3 | $<0,10$ |
| 6. KT | 0,1 | 3,5 | $>5$ | 1,9 | $>5$ | — | |
| | 0,5 | 7,7 | $<0,10$ | 13,1 | $<0,10$ | 30,6 | $<0,10$ |
| | 2,0 | 12,5 | $<0,10$ | 26,2 | $<0,10$ | 27,5 | $<0,10$ |
| | 3,5 | 12,3 | $<0,10$ | 29,8 | $<0,10$ | 26,8 | $<0,10$ |
| **c) Einfluß des Stickstoffes nach der KT-Periode** | | | | | | | |
| 1. LT | 0,0 | 0,3 | | 0,4 | | [4] | |
| | 0,1 | 0,9 | $>5$ | 1,6 | $>5$ | | |
| | 0,5 | 1,8 | 0,70 | 1,7 | 2,3 | | |
| | 2,0 | 2,5 | $<0,10$ | 1,5 | 1,05 | | |
| | 3,5 | 2,7 | $<0,10$ | 2,8 | $<0,10$ | | |
| 11. LT | 0,1 | 0,3 | $>5$ | 0,5 | $>5$ | | |
| | 0,5 | 0,4 | $>5$ | 0,5 | $>5$ | | |
| | 2,0 | 0,9 | $>5$ | 0,6 | $>5$ | | |
| | 3,5 | 0,8 | $>5$ | 0,8 | $>5$ | | |

[1] Differenz zum Vergleichsversuchsglied der jeweiligen Gruppe (ohne Stickstoffernährung vor, während bzw. nach der KT-Periode); Verrechnung nach dem T-Test.

[2] Mittlere Anzahl Tage vom Beginn der KT-Periode.

[3] Differenz zum Versuchsglied: 1. KT/0,1 g/l/W.

[4] Nur ein Teil der Pflanzen mit terminalen Blütenständen. Sichtbarwerden der Inflorescenzen daher nicht bestimmt.

Blütenbildung, so daß der am Ende der KT-Periode verabfolgte Stickstoff auch anschließend noch fördernd wirkte. Die relativ starke Blühförderung am Ende der KT-Periode deutet darauf hin, daß auch während der KT-Periode zeitliche Unterschiede in der Stickstoffwirkung bestehen.

Unmittelbar nach der KT-Periode sind Stickstoffgaben nur von geringem, aber begünstigendem Einfluß. Der Ernährungsbeginn am 11. LT ergab keinen gesicherten Unterschied zu dem am 21. LT. Offenbar ist der Stickstoff nur unmittelbar nach der KT-Periode stärker wirksam, das trifft teilweise auch für die Temperatur zu (Rünger 1958 IV).

Dafür, daß Stickstoffgaben vor der KT-Periode die Blütenbildung beeinträchtigen, während derselben fördern, gibt es zunächst zwei Erklärungsmöglichkeiten. Entweder verstärkt Stickstoff den Hemmzustand vor der KT-Periode — wodurch der Blüheffekt vermindert wird — oder Stickstoffgaben vor der KT-Periode haben einen überoptimalen Stickstoffgehalt während der KT-Periode — anfänglich oder länger anhaltend — zur Folge. Die zweite Möglichkeit kann aber ausgeschaltet werden, weil selbst sehr schwache Gaben vor der KT-Periode eine Verminderung des Blüheffektes erzielen, während der KT-Periode eine Steigerung über 2,0 g/l W (diese Gabe erhielten ja auch die Versuchsglieder mit unterschiedlicher Ernährung vor der KT-Periode) hinaus den Blüheffekt nicht weiter verminderten.

Zur Ergänzung seien noch Teilergebnisse eines schon früher durchgeführten Versuches mitgeteilt, bei dem Stickstoff in Form von Ammonsulfatsalpeter gegeben und nach Ernährungsbeginn jeden 5. Tag 50 cm³ der Lösung verabfolgt wurden. Die Pflanzen der Versuchsglieder, die vor der KT-Periode Stickstoff erhielten, bekamen während derselben Lösungen jeweils der gleichen Konzentration. Tabelle 2 enthält die Ergebnisse. Die vor der KT-Periode mit 0,5 g/l W ernährten

Tabelle 2. *Einfluß verschieden starker Stickstoffgaben bei verschiedenem Beginn der Ernährung*

Dauer der KT-Behandlung: 15 Tage; Versuchsglieder mit 0,5 oder 3,0 g/l W vor KT-Periode erhielten während der KT-Periode Lösungen der gleichen Konzentration.

| Beginn der Stickstoffernährung | Lösung g/l/Wasser | Mittlere Anzahl der Seitentriebe mit Infloreszenzen | Mittlere Anzahl der Blüten am terminalen Blütenstand | Sichtbarwerden der Infloreszenzen[1] |
|---|---|---|---|---|
| 20 Tage vor Beginn der KT-Periode | 0,5 | 0,5 | 2,8 | 54,6 |
| 10 Tage vor Beginn der KT-Periode | | 3,1 | 19,3 | 39,9 |
| Am 1. KT | | 7,9 | 24,5 | 31,4 |
| 20 Tage vor Beginn der KT-Periode | 3,0 | 1,6 | 1,3 | —[2] |
| 10 Tage vor Beginn der KT-Periode | | 5,1 | 25,8 | 40,5 |
| Am 1. KT | | 9,6 | 36,1 | 31,0 |

[1] Mittlere Anzahl Tage nach Beginn der KT-Periode.

[2] Wurde nicht genau festgestellt.

Pflanzen hatten während der KT-Periode sicher keinen höheren Stickstoffgehalt als diejenigen mit 3,0 g/l W ab 10. Tag vor der KT-Periode und ab 1. KT. Trotzdem war der Blüheffekt geringer. Auch daraus geht hervor, daß die Verminderung des Blüheffektes durch schwache Stickstoffgaben vor der KT-Periode nicht eine Folge überoptimalen Stickstoffgehaltes während der KT-Periode gewesen sein kann.

Nach den bisherigen Ergebnissen kann gesagt werden: *Vor der Kurztagperiode wirkt Stickstoff blühhemmend, während der Kurztagperiode blühfördernd.*

**2. Untersuchungen über Wechselbeziehungen zwischen Wirkungen von Stickstoffernährung und Temperatur.** Untersuchungen über die Wechselbeziehungen zwischen den Wirkungen von Stickstoffernährung und den Wirkungen anderer, die Blütenbildung beeinflussender Faktoren erscheinen geeignet, die Kenntnisse zu vertiefen. Im folgenden werden Versuche beschrieben, bei denen die Stickstoffernährung und Temperatur variiert wurden.

*a) Stickstoffernährung und Temperatur vor der Kurztagperiode.* Die Verstärkung der aktiven Hemmung der Blütenbildung durch Stickstoff vor der KT-Periode ist unter LT-Bedingungen möglich. Die LT-Wirkung steht aber auch in einem engen Zusammenhang mit der Temperatur (Rünger 1958 II). Mit zunehmender Temperatur verstärkt sich die Blühhemmung. Wenn Stickstoff das gleiche Hemmsystem[1] beeinflußt wie die Temperatur, müssen Wechselbeziehungen zwischen den Wirkungen dieser Faktoren bestehen. Ein Versuch von mehreren Versuchen, die hierüber Aufschluß geben sollten, wurde nach folgendem Schema durchgeführt:

Staffelung der Temperatur während 20, 10 oder 5 Tagen vor der KT-Periode:

a) Beginn der Stickstoffernährung gleichzeitig mit der Temperaturstaffelung.

b) Beginn der Stickstoffernährung am 1. KT.

Temperaturen während der 20-, 10- oder 5tägigen Periode vor der KT-Periode: 15, 20, 25 und 30°.

Kurztagperiode: 10 Tage im Gewächshaus, täglich 9 Std Licht.

Stickstoffernährung: Nach Beginn jeden 5. Tag je Topf 30 cm³ einer Lösung von 2 g/l W.

Jedes der 28 Versuchsglieder bestand aus 14 Pflanzen.

Bei den Versuchsgliedern mit 5- und 10tägiger Vorbehandlung hat die Stickstoffernährung nur einen geringen Einfluß ausgeübt. Auch die Temperatur hat bei diesen beiden Versuchsgruppen keinen erkennbar unterschiedlichen Einfluß auf die hemmende Wirkung des Stickstoffes gehabt. Sie sind deshalb in der Tabelle nicht aufgeführt.

Ein schwacher Einfluß der Temperatur war noch bei anderen Versuchen festzustellen, bei denen aber auch die Differenzen zwischen verschiedener Stickstoffernährung größer waren (s. S. 519 und nächster Versuch).

Bei kurzfristiger Vorbehandlung konnte eine bei allen Temperaturen fast gleich starke Blühhemmung durch Stickstoff beobachtet werden. Es scheint, daß es eine anfängliche, nicht von der Temperatur abhängige Stickstoffwirkung gibt.

Bei 20tägiger Vorbehandlung mit Stickstoff ist eine wesentliche Abnahme des Blüheffektes bei 20° und 25° festzustellen (Tabelle 3). Die Abnahme bei 15° und 30° ist sehr gering. Aus früheren Untersuchungen mit gut ernährten Pflanzen (Rünger 1958 II) geht hervor, daß mit zunehmender Temperatur, mindestens bis 30°, vor der KT-Periode der

[1] Die Bezeichnung „Hemmsystem", „Hemmzustand", „Hemmstoff" werden hier der Einfachheit halber benutzt und dienen zur Benennung der ihrer Natur nach unbekannten Ursache der Beeinträchtigung der Blütenbildung.

Tabelle 3. *Einfluß der Temperatur und der Stickstoffernährung vor der Kurztagperiode auf die Blütenbildung von Kalanchoe*
Dauer der Kurztagperiode nach der Vorbehandlung: 10 Tage; Anzahl der Pflanzen je Versuchsglied: 13—14; Dauer der Vorbehandlung: 20 Tage.

| Temperatur °C | Während der Vorbehandlung mit (+) ohne (—) Stickstoff | Mittlere Anzahl der Seitentriebe mit Inflorescenzen | Mittlere Anzahl der Blüten am terminalen Blütenstand | Sichtbarwerden der Inflorescenz[1] |
|---|---|---|---|---|
| 15 | + | 13,2 | 40,3 | 26,6 |
| | — | 14,8 | 38,4 | 25,0 |
| 20 | + | 7,4 | 24,9 | 30,3 |
| | — | 16,1 | 45,3 | 23,6 |
| 25 | + | 9,3 | 22,8 | 31,8 |
| | — | 16,5 | 46,2 | 22,7 |
| 30 | + | 14,4 | 42,1 | 26,3 |
| | — | 15,5 | 45,5 | 21,9 |

[1] Mittlere Anzahl Tage nach Beginn der Kurztagperiode.

Blüheffekt abnimmt. Wenn hier durch diese Temperatur der Blüheffekt nicht mehr als bei 25° verringert wurde, so kann daraus geschlossen werden, daß der Stickstoff durch die höhere Temperatur in seiner Wirkung behindert wird, bevor durch 30° die Blühhemmung vergrößert werden kann. Da bei dieser hohen Temperatur die Pflanzen noch reichlich Stickstoff aufnehmen[1], erfolgt die Behinderung vor der Beeinflussung des Hemmzustandes. Nach den schon erwähnten Untersuchungen kommt es bei 15° vor der Kurztagperiode zu einer Abnahme der Hemmung. Wenn hier bei der 20tägigen Vorbehandlung keine Abnahme des Blüheffektes durch die Stickstoffgaben zu verzeichnen ist, so ist wohl das Ergebnis wie bei 30°, doch handelt es sich wohl um eine andere Wirkungsweise. Wenn es nämlich bei 15° nicht zu einer Ausbildung des „Hemmstoffes" kommt, so kann der Stickstoff auch keinen Einfluß haben.

Es ist hier nötig, auf Ergebnisse eines schon früher durchgeführten Versuches zurückzugreifen, bei dem Pflanzen 10 Tage vor der Temperaturbehandlung Stickstoff erhielten (s. Tabelle 4). Die Temperaturvariation nach 10tägiger Stickstoffernährung rief Unterschiede im Blüheffekt hervor, wie sie nach der schon zitierten Untersuchung zu erwarten waren. Ein derartiger Temperatureinfluß ist also nur dann bemerkbar, wenn die Pflanzen lange genug vor der Temperaturstaffelung Stickstoff erhalten haben.

Während bei genügend langer Stickstoffernährung vor der KT-Periode deutliche Temperatureinflüsse vorliegen, ist das bei stickstoffarmen Pflanzen nicht oder wenig der Fall. So läßt sich bei 20tägiger Vorbehandlung mit verschiedenen Temperaturen, aber ohne Stickstoff-

[1] Das geht aus Untersuchungen hervor, die in einem anderen Zusammenhang veröffentlicht werden sollen.

Tabelle 4. *Einfluß der Temperatur und der Stickstoffernährung vor der Kurztagperiode auf die Blütenbildung von Kalanchoe*

Dauer der Kurztagperiode nach der Vorbehandlung: 10 Tage; Anzahl der Pflanzen je Versuchsglied: 10.

| Vorbehandlung | Temperatur während der Vorbehandlung °C | Mittlere Anzahl der Seitentriebe mit Inflorescenzen | Mittlere Anzahl der Blüten am terminalen Blütenstand |
|---|---|---|---|
| Beginn der Stickstoffernährung 20 Tage vor Beginn der KT-Periode und 10 Tage vor Beginn der Temperatur-Staffelung | 15 | 13,0 | 18,7 |
| | 20 | 12,0 | 10,2 |
| | 25 | 7,8 | 10,4 |
| | 30 | 5,2 | 1,3 |
| Beginn der Stickstoffernährung mit Beginn der Temperaturstaffelung 10 Tage vor der KT-Periode | 15 | 14,1 | 31,9 |
| | 20 | 14,3 | 23,1 |
| | 25 | 14,5 | 24,8 |
| | 30 | 15,4 | 25,5 |

gaben noch erkennen (s. Tabelle 3), daß der Blüheffekt von 15—30° etwas zunimmt, die Beeinflussung also in anderer Richtung erfolgt, als bei den Pflanzen mit genügend hohem Stickstoffgehalt. Die Unterschiede sind aber, abgesehen von der Zeit bis zum Sichtbarwerden der Inflorescenzen, nicht sehr deutlich und könnten auf Zufälligkeiten beruhen. Hier kann aber auch die notwendigerweise vorhandene Abschwächung des Hemmzustandes mit der Verarmung an Stickstoff eine Rolle spielen, und zwar in der Art, daß die Verarmung bei hoher Temperatur stärker als bei niedriger ist, diese Unterschiede infolge der starken Verarmung zu Beginn der Behandlung sich aber nur wenig herausbilden können. Diese Frage müßte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Aus den Ergebnissen der hier beschriebenen Versuche läßt sich folgendes entnehmen:

1. Der Einfluß des Stickstoffes auf den Hemmzustand ist temperaturabhängig; bei 15 und 30° ist die Wirkung gering, bei 20 und 25° groß.

2. Bei stickstoffarmen Pflanzen ist die Variation der Temperatur weitgehend wirkungslos, wenn von der möglicherweise temperaturabhängig unterschiedlich schnellen Verarmung abgesehen wird.

3. Eine Variation der Temperatur vor der Kurztagperiode ruft nur dann den aus den schon erwähnten Untersuchungen bekannten Effekt hervor, wenn die Pflanzen genügend Stickstoff enthalten.

*b) Einfluß von Stickstoffernährung und Temperatur während der Kurztagperiode.* Der Versuch mit variierter Stickstoffernährung und verschiedenen Temperaturen während der Kurztagperiode wurde nach folgendem Schema durchgeführt:

Beginn der Stickstoffernährung:

Gruppe 1 = 10 Tage vor der KT-Periode
Gruppe 2 = am 1. KT
Gruppe 3 = am 6. KT
Gruppe 4 = am 1. LT nach der KT-Periode

Stickstoffernährung: Jeden 5. Tag 30 cm³ einer Lösung von 2 g/l W bis zum 40. Tag nach dem Ende der KT-Periode.

Dauer der KT-Periode: 15 Tage (Beginn am 30. 6.).
Tageslänge während der KT-Periode: 9 Std.
Temperatur während der Kurztagperiode: 15, 20, 25 und 30°.
Jedes der 16 Versuchsglieder bestand aus 14 Pflanzen.

Bleibt die Versuchsgruppe 1 zunächst außer Betracht, so zeigen die Ergebnisse (Abb. 1), daß Stickstoffgaben während der KT-Periode die Blütenbildung bei 15° sehr schwach, bei 20 und 25° dagegen stark gegenüber Pflanzen ohne Stickstoffernährung (Gruppe 4) fördern. Die schwache Förderung bei 15° ist nicht etwa die Folge einer verminderten

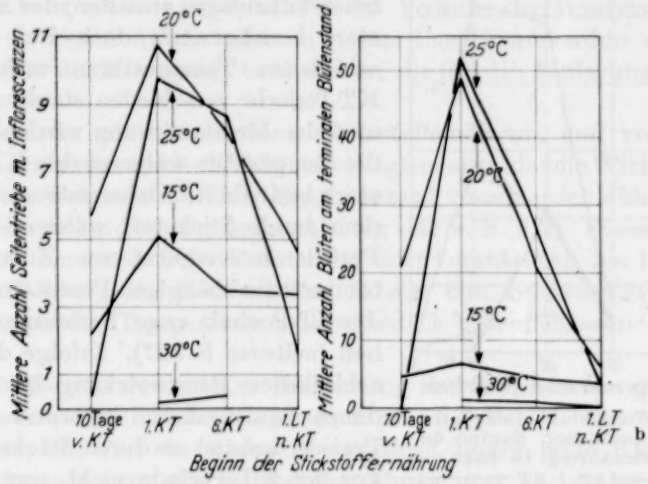



Abb. 1 a u. b. Einfluß unterschiedlichen Beginnes der Stickstoffernährung bei verschiedenen Temperaturen während der KT-Periode. a Anzahl Seitentriebe mit Inflorescenzen; b Anzahl Blüten am terminalen Blütenstand

Stickstoffaufnahme — sie ist bei 15° noch beträchtlich (s. Fußnote S. 523) — 15° müssen vielmehr das Wirksamwerden des Stickstoffes in bezug auf die Blütenbildung in den Pflanzen behindern, wie das etwa durch hohe Temperaturen bei der Vergrößerung der Blühhemmung der Fall ist (s. S. 523). Bei Stickstoffgaben während der KT-Periode besteht im Blüheffekt zwischen den Versuchsgliedern mit 20 und 25° kein Unterschied. Die Förderung bei 25° ist in diesem Versuch aber größer als bei 20° (das bedeutete eine Erhöhung des Temperaturoptimums), weil bei der Versuchsgruppe 4 25° ungünstiger waren als 20°. Während aber die übrigen Ergebnisse dieses Versuches durch zwei frühere Versuche bestätigt werden, gibt es in diesem Punkte eine Abweichung. Bei einem der anderen Versuche waren bei Stickstoffgaben erst nach der KT-Periode während der KT-Periode 25° so günstig wie 20°.

Der verzögerte Beginn der Stickstoffgaben während der KT-Periode (Gruppe 3) ergab hier, obwohl noch 10 Tage bis zum Ende der KT-Periode verblieben, ein stärkeres Absinken des Blüheffektes als beim

Versuch im Gewächshaus (S. 519), bei dem die Kurztagperiode nur 10 Tage dauerte. Die Unterschiede in der Wirksamkeit verzögerter Stickstoffgaben müssen wohl in den verschiedenartigen Bedingungen (Lichtintensität?) von Versuchskästen und Gewächshaus ihre Ursache haben (s. S. 518).

Durch den Ernährungsbeginn 10 Tage vor der KT-Periode wird gegenüber dem Ernährungsbeginn am 1. KT (die beiden Gruppen 1 und 2 sind vergleichbar, weil beide während der KT-Periode und anschließend gleiche Stickstoffmengen erhielten) der Blüheffekt stark herabgesetzt, doch bei den verschiedenen Temperaturen während der KT-Periode verschieden stark. Das Ausmaß der Hemmwirkung wird also durch die Temperatur während der KT-Periode stark beeinflußt. Daher müssen zwischen dem durch Stickstoff während der LT-Periode hervorgerufenen Zustand und temperaturabhängigen Prozessen während der KT-Periode enge Beziehungen bestehen (weiteres S. 527). Infolge der unterschiedlichen Hemmwirkung bei verschiedenen Temperaturen während der KT-Periode, kommt es durch Stickstoffgaben vor der KT-Periode nicht nur zu einer Verminderung der Blütenbildung, sondern auch zu einer Verlagerung des Temperaturoptimums und -maximums in einen tieferen Temperaturbereich. Das zeigt Abb. 2, mit der die Werte der Tabelle 1 b in veränderter Anordnung wiedergegeben werden. Dieses Ergebnis wird durch zwei andere, hier nicht beschriebene Versuche bestätigt. Da bei früheren Untersuchungen (RÜNGER 1956) mit gleichartigen, aber gut ernährten Pflanzen und den gleichen Versuchseinrichtungen 20° auch bei unterschiedlich langer Dauer der KT-Periode günstiger als 25° waren[1] und bei 30° niemals auch nur eine schwache Blühreaktion zu verzeichnen war, handelt es sich hier nicht etwa nur um eine mit der Stickstoffernährung veränderte Verschiebung des Temperaturoptimums bzw. -maximums mit der Dauer der KT-Periode.

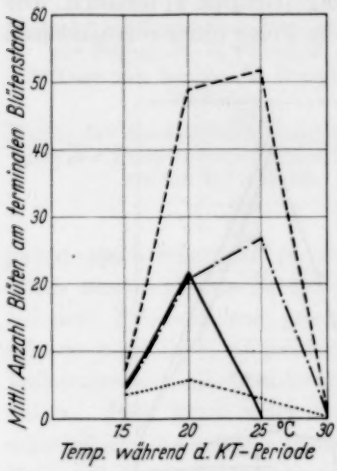



Abb. 2. Wie Abb. 1b, jedoch veränderte Anordnung. Beginn der Stickstoffernährung: 10 Tage vor KT ———; am 1. KT – – – –; am 6. KT —·—·—; 1. LT nach KT ·····

Die Untersuchungen über die Wechselbeziehungen zwischen Wirkungen von Temperatur und Stickstoffernährung nach der KT-Periode sind noch nicht abgeschlossen. Ergebnisse dieser Versuche sollen zu einem späteren Zeitpunkt veröffentlicht werden.

[1] OLTMANNS (1960) hat bei seinen Untersuchungen am „Göttinger" Stamm etwas andere Temperaturabhängigkeiten ermittelt.

## Besprechung

Aus den Ergebnissen der Versuche, bei denen stickstoffarme Pflanzen verschieden stark und in verschieden kurzen Zeitabschnitten mit Stickstoff ernährt wurden, geht hervor, daß die Blütenbildung durch Stickstoffgaben vor der KT-Periode gehemmt, während dieser Periode stark und in einer kurzen Periode danach sehr schwach gefördert wird. Sowohl der durch LT hervorgerufene blühhemmende wie der durch KT hervorgerufene blühfördernde Zustand werden durch Stickstoff verstärkt. Da bei stickstoffarmen Pflanzen Hemmung und Förderung mindestens sehr schwach sind, muß es im Verlaufe der Verarmung an Stickstoff zu einem Abbau oder zu einem Unwirksamwerden solcher Stoffe, die für die Hemmung, und solcher, die für die Förderung nötig sind, kommen.

Die Versuche mit verschiedener Stickstoffernährung und verschiedenen Temperaturen vor der KT-Periode zeigten dann, daß die Wirkungen dieser beiden Faktoren auf den Hemmzustand voneinander abhängen, die Wechselbeziehungen aber mehrschichtig sind (s. S. 523). Diese Mehrschichtigkeit besagt, daß die Entstehung oder Verstärkung des Hemmzustandes (Bildung des Hemmstoffes) infolge von Stickstoffgaben in mehreren, von der Temperatur unterschiedlich beeinflußbaren Stufen erfolgt.

Je nach Beginn der Stickstoffernährung sind Temperaturoptimum und -maximum der Blütenbildung während der KT-Periode verschieden. Wird vor der KT-Periode Stickstoff verabfolgt, liegen beide Kardinalpunkte tiefer, als wenn die Stickstoffernährung erst ab 1. oder 6. KT erfolgt (s. S. 526). Hierfür gibt es folgende Erklärung: Infolge des Ernährungsbeginns vor der KT-Periode und des dadurch bedingten Hemmzustandes werden während der KT-Periode Prozesse begünstigt, die die Blütenbildung mit zunehmender Temperatur stärker hemmen (bei höheren Temperaturen stärker hemmende Prozesse sind ja Voraussetzung für das Zustandekommen einer Temperaturoptimumkurve). Daraus ergibt sich eine Verschiebung des Optimums und des Maximums in einen tieferen Temperaturbereich und eine Verminderung des Blüheffektes. Vermutlich ist die Hemmung nicht nur zu Anfang der KT-Periode vorhanden und verschwindet nach einer — je nach Stärke des Hemmzustandes verschiedenen — Anzahl von Tagen, sondern bleibt noch längere Zeit bestehen, denn sonst wäre die Veränderung der Temperaturoptimumkurve kaum verständlich.

Die andere noch denkbare Möglichkeit, daß das „normale" Optimum von 20° durch den Ernährungsbeginn am 1. oder 6. KT in einen höheren Tempaturbereich verschoben wird, weil blühfördernde Wirkungen des Stickstoffes durch höhere Temperatur mehr begünstigt werden als durch niedrigere, kann gegenüber stickstoffarmen Pflanzen (Stickstoffgaben

erst nach der KT-Periode) eine Rolle spielen (s. S. 525), dürfte aber nicht für das niedrigere Optimum bzw. Maximum bei Stickstoffgaben vor der KT-Periode entscheidend sein. Gäbe es die optimumerniedrigende Wirkung der Stickstoffgaben vor der KT-Periode nicht, müßte der Kurvenverlauf bei Beginn der Stickstoffgaben vor und während der KT-Periode gleichsinnig sein, denn die Pflanzen, bei denen die Stickstoffernährung schon vor der KT-Periode begann, erhielten ja während der KT-Periode Stickstoff wie die Pflanzen, denen Stickstoff ab 1. KT verabfolgt wurde.

Während die blühhemmende Stickstoffwirkung offenbar in einem engen Zusammenhang mit der Langtagreaktion steht, ohne daß damit die Annahme einer direkten Beeinflussung des photoperiodischen Mechanismus ausgedrückt werden soll, gibt es für die Blühförderung durch Stickstoff weniger Anhaltspunkte über die Wirkungsweise. Die noch verhältnismäßig starke fördernde Wirkung von Stickstoffgaben am Ende und die allerdings schwache nach der KT-Periode deuten darauf hin, daß nicht die photoperiodischen Prozesse, die günstige Wirkung schon sehr schwacher Gaben außerdem darauf, daß nicht die Steigerung des Chlorophyllgehaltes und damit der Photosynthese einzige Wirkungen des Stickstoffes sind.

## Zusammenfassung

1. An Stickstoff verarmte Pflanzen erhielten vor, während oder in einer kurzen Zeitspanne nach der Kurztagperiode verschieden lange unterschiedliche Ammoniumnitratgaben, bei einigen Versuchen Ammonsulfatsalpeter. Jeweils in den übrigen Zeitabschnitten war die Ernährung gleichartig. Bei diesen Versuchen zeigte sich, daß die Blütenbildung durch Stickstoffgaben vor der KT-Periode gehemmt, während der KT-Periode stark und im Anschluß daran sehr schwach gefördert wird.

2. Bei weiteren Versuchen wurden Stickstoffernährung und Temperatur in einzelnen Zeitabschnitten variiert.

a) Während der Langtagperiode vor der KT-Periode wirkt Stickstoff bei mittleren Temperaturen hemmend. 30° behindern das Wirksamwerden des Stickstoffes, 15° unterbinden die Ausbildung des Hemmsystems, so daß auch hier der Stickstoff unwirksam bleibt. Der hemmende Einfluß hoher Temperaturen während der Langtagperiode ist nur möglich, wenn die Pflanzen genügend Stickstoff enthalten. Stickstoff und Temperatur beeinflussen offenbar das gleiche, unter Langtagbedingungen wirksam werdende Hemmsystem.

b) Während der KT-Periode fördert Stickstoff die Blütenbildung bei 15—30°. Am größten war die Förderung aber bei 20 und 25°.

c) Bei Stickstoffernährung vor der KT-Periode liegen Temperaturoptimum und Temperaturmaximum während der KT-Periode in einem

niedrigeren Temperaturbereich als beim Ernährungsbeginn am 1. oder 6. Kurztag.

Herrn Professor R. Maatsch bin ich für die Förderung dieser Arbeit sehr zu Dank verpflichtet. Ich danke ferner Fräulein Renate Thomas für gewissenhafte Hilfe bei der Versuchsarbeit.

## Literatur

Denffer, D. v.: Über die Wechselbeziehungen zwischen Stickstoffbedürfnis und photoperiodischer Reaktion bei einigen Lang- und Kurztagpflanzen.. Planta (Berl.) **31**, 418—447 (1940).

Harder, R.: Über den Einfluß der Tageslänge nach der photoperiodischen Induktion auf die Inflorescenzen von *Kalanchoe blossfeldiana*. Planta (Berl.) **42**, 19—26 (1953).

Harder, R., und R. Bünsow: Über die Wirkung der Tageslängen vor der Kurztaginduktion auf die Blütenbildung von *Kalanchoe blossfeldiana*. Planta (Berl.) **43**, 315—324 (1954).

Hinnawy, E. J. E.: Some aspects of mineral nutrition and flowering. Medel. Landbouwhogeschool Wageningen **56** (9), 1—51 (1956).

Knott, J. E.: Effect of nitrate of soda on the response of spinach to length of day. Plant Physiol. **15**, 146—149 (1950).

Murneek, A. E.: Nutrition and metabolism as related to photoperiodism. In A. E. Murneek and R. O. Whyte: Vernalization and Photoperiodism. Cron. bot. (Waltham, Mass. USA) (1948).

Oltmanns, O.: Über den Einfluß der Temperatur auf die endogene Tagesrhythmik und die Blüteninduktion bei der Kurztagpflanze *Kalanchoe blossfeldiana*. Planta (Berl.) **54**, 233—264 (1960).

Rünger, W.: Über den Einfluß der Temperatur und der Lichtintensität auf die photoperiodische Reaktion und die Blütenentwicklung von *Kalanchoe blossfeldiana* Poellnitz cv. *Tom Thumb* I. Gartenbauwiss. **2** (20), 485—504 (1956).

— Über den Einfluß der Temperatur und der Lichtintensität auf die photoperiodische Reaktion und die Blütenentwicklung von *Kalanchoe blossfeldiana* Poellnitz cv. *Tom Thumb* II, III, IV. Gartenbauwiss. **5** (23), 282—293, 294—307, 419—432 (1958).

— Über den Einfluß der Temperatur während verschiedener Zeitabschnitte der Kurztagperiode auf die Blütenbildung von *Kalanchoe blossfeldiana*. Planta (Berl.) **53**, 602—611 (1959).

Schwabe, W. W.: Evidence for a flowering inhibitor produced in long days in *Kalanchoe blossfeldiana*. Ann. Botany **20**, 1—14 (1956).

— Recent work on the inhibitory effect of long days on the flowering of some short-day plants. Rept. Internat. Symposium on Photoperiodism, Parma, 1957.

Wellensiek, S. J.: Photoperiodical reaction of *Perilla crispa*. Proc. kon. ned. Akad. Wet., Ser. C **61**, 552—560 (1958).

— The inhibitory action of light and the floral induction of *Perilla crispa*. Proc. kon. ned. Akad. Wet., Ser. C **62**, 195—203 (1959).

Dr. Walter Rünger,
Institut für Zierpflanzenbau der T.H.,
Hannover-Herrenhausen, Herrenhäuser Str. 2

Planta 56, 530—554 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Münster i. Westf.

# ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN AN ZELLKERNEN VON *CUCUMIS SATIVUS* L.

Von

ELISABETH PEVELING

Mit 14 Textabbildungen

*(Eingegangen am 23. Januar 1961)*

## Einleitung

Die pflanzlichen Zellkerne lassen sich nach den bisherigen Beobachtungen auf wenige Typen zurückführen, die von der Chromosomenveränderung in der Telophase abhängig sind. Nach HEITZ (1935, 1955, 1956), STEBBINS (1950) und GEITLER (1955) sind Chromonemakerne, Chromozentrenkerne und homogene, optisch „leere" Kerne zu unterscheiden. Zwischen diesen ausgeprägten Erscheinungsformen sind alle Übergänge zu beobachten.

Die Cucurbitaceen besitzen typische Chromozentrenkerne, die sublichtmikroskopisch, soweit mir bekannt ist, bisher nicht untersucht wurden.

In der vorliegenden Arbeit werden elektronenmikroskopische Beobachtungen an der Kernmembran[1], am Nucleolus und den Chromozentren, sowie an einigen Teilungsstadien und Chromosomen bei *Cucumis sativus* mitgeteilt. Dieses Objekt habe ich für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen bevorzugt, weil es bei der Fixation keine besonderen Schwierigkeiten bot.

Vergleichsweise wurden lichtmikroskopische Beobachtungen an mehreren Gattungen und Arten der Cucurbitaceen nach verschiedenen Fixationen und Färbungen, sowie der Feulgen-Nuclealreaktion durchgeführt.

## Material und Methode

Die Samen von *Cucumis sativus* der Sorten „Vorgebirgstrauben" und „Delikatess" wurden in gut feucht gehaltenen Sägespänen im Gewächshaus zum Keimen gebracht. Die 2—4 Tage alten Wurzeln waren 4—6 cm lang und hatten einen Durchmesser von 0,5—0,8 mm erreicht. In diesem Stadium wurden zu verschiedenen Tageszeiten etwa $^1/_2$ cm lange Spitzen abgeschnitten. Die Fixation erfolgte in 1%igem Osmiumtetroxyd — gepuffert mit Veronalacetat auf $p_H$ 7 — $1^1/_2$—2 Std oder im Gemisch nach ALTMANN — 2%iges Osmiumtetroxyd und 5%iges Kaliumbichromat im Verhältnis 1:1 — 2—24 Std bei Zimmertemperatur. Die Nachbehandlung der Objekte erfolgte nach 2stündiger Wässerung oder direkt nach der

[1] Die Bezeichnung Kernmembran wird in dieser Arbeit durch Kerngrenzschichten ersetzt (s. u. ).

Fixation in steigenden Alkohol- oder Acetonkonzentrationen (je 30 min in den Konzentrationen 30%, 50%, 70%, 80%, 96%, und 2mal 100% oder je 15 min in den Konzentrationen 10%, 20%, 30%, 40% . . . 90%, 96% und 2mal 100% oder je 10 min in den Konzentrationen 5, 10, 15, 20%, . . . 2mal 100%). Die Präparate wurden zusätzlich kontrastiert mit Uranylacetat (STRUGGER 1956a) oder Phosphorwolframsäure (WOHLFARTH-BOTTERMANN 1957). Uranylacetat wurde als alkoholische (80%) 1%ige Lösung 1—2 Std, Phosphorwolframsäure als wäßrige 2%ige Lösung 2 Std angewandt. Die Einbettung erfolgte in Methacrylat 8:2, das mit Dichlorbenzoylperoxyd 90:1 versetzt war oder in Araldit (GLAUERT u. BRIEGER 1957). Die Objekte in Methacrylat wurden bei 48° C 24 Std im Thermostaten oder bei 2° C unter UV-Bestrahlung (u-förmiger Niederdruckbrenner NK 25/7 aus Quarz) 2—3 Tage, diejenigen in Araldit nur im Thermostaten bei 48° C 2 Tage polymerisiert. Die Ultradünnschnitte wurden mit dem Ultramikrotom von Leitz unter Verwendung von Glasmessern hergestellt. Die elektronenmikroskopischen Abbildungen wurden mit dem Elmiskop IA der Fa. Siemens bei 60 oder 80 kV Strahlspannung auf Perutz-Kontrastplatten aufgenommen[1].

## Ergebnisse

Die runden oder langgestreckten Interphasenkerne im Wurzelmeristem von *Cucumis sativus* (Abb. 1) sind 5—8 $\mu$ groß. Die Oberfläche zahlreicher Kerne weist Einbuchtungen und Vorwölbungen auf, die bis 3 $\mu$ betragen können. In allen Interphasenkernen fallen in licht- und elektronenmikroskopischen Präparaten die 3—5 $\mu$ großen, kontrastreichen Nucleolen auf. Die Chromozentren, deren Zahl die diploide Chromosomenzahl — 2n = 14 — nicht übersteigt, sind peripher und um den Nucleolus gelagert.

### *1. Die Kerngrenzschichten*

Zwischen Zellkern und Cytoplasma besteht eine Grenzschicht, die seit langem als Kernmembran bezeichnet wird. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten, daß diese Grenze aus 2 kontrastreichen Schichten aufgebaut ist, zwischen denen ein kontrastloser Bereich liegt. Nach diesen Beobachtungen ist die Bezeichnung Kernmembran besser durch *Kerngrenzschichten* zu ersetzen. Bei lichtmikroskopischen Beschreibungen kann infolge des geringeren Auflösungsvermögens nur von einer Kerngrenzschicht gesprochen werden. — In der englischen Literatur versucht man, dem neu erkannten Aufbau der Kernmembran dadurch gerecht zu werden, daß man von der „inner and outer nuclear membrane" und dem nicht osmiophilen „perinuclear space" spricht (WATSON 1955). Zusammenfassend werden die einzelnen Schichten als „nuclear envelope" bezeichnet.

[1] Für die Herstellung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen danke ich Frl. I. KRAIN, Medizinische Elektronenmikroskopie der Universität Münster (Dir. Prof. Dr. G. PFEFFERKORN) und Frl. R. HÖRIG, Physikalisches Institut der Universität Münster (Dir. Prof. Dr. E. KAPPLER, Leiter der elektronenmikroskopischen Abteilung Doz. Dr. L. REIMER).

Der an tierischen und pflanzlichen Objekten übereinstimmend beobachtete gleichmäßige Schichtenbau der Kerngrenzschichten wird von Poren unterbrochen, die oft von einem Annulus umgeben sind. Die Frage, ob es sich hierbei wirklich um Poren, also um offene Bezirke in den Kerngrenzschichten handelt, durch die ein freier Substanzaustausch zwischen Kernmaterial und Cytoplasma möglich ist, oder

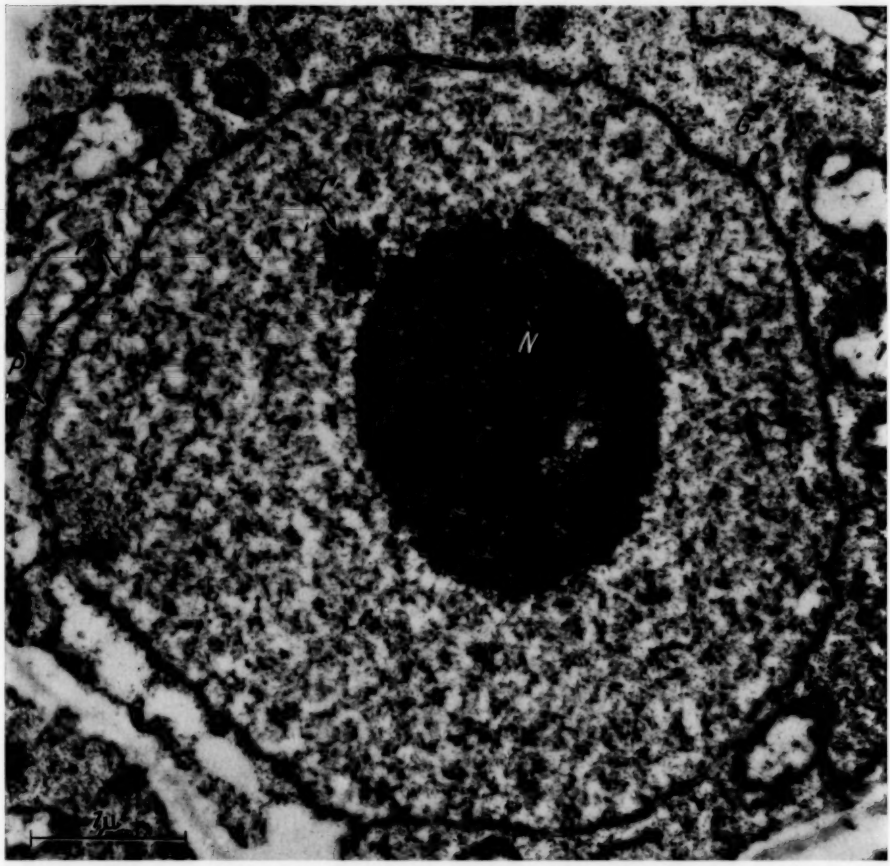



Abb. 1. *Cucumis sativus*, Interphasenkern mit Kerngrenzschichten (*G*), Kernporen (*P*), Nucleolus (*N*) und Chromozentrum (*C*). Fix.: 1% gep. $OsO_4$; Kontr.: 1% $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 8000

ob die Poren durch verschieden dicke Schichten verschlossen sind, ist bis heute ungeklärt. — Noch ungelöster sind die Probleme über den Zusammenhang der Kerngrenzschichten mit dem endoplasmatischen Reticulum, das in Pflanzenzellen von STRUGGER (1957a) als Doppellamelle bezeichnet wird. Es stehen sich die beiden Meinungen gegenüber, daß das endoplasmatische Reticulum aus den Kerngrenzschichten entsteht, und daß die Kerngrenzschichten eine Differenzierung des endoplasmatischen Reticulums sind. (Lit. zur Kernmembran vgl. MARINOS 1960 und WHALEY u. a. 1960b.)

*a) Aufbau der Kerngrenzschichten.* Die Kerngrenzschichten von *Cucumis sativus* bestehen ebenfalls aus 2 kontrastreichen Schichten und einem kontrastlosen Zwischenbereich (Abb. 2). Sie sind insgesamt 280 bis 300 Å dick; die beiden osmiophilen Schichten sind 65—75 Å breit und liegen 140—160 Å voneinander entfernt. Darüber hinaus ist bei starker Vergrößerung an einigen sehr günstigen Stellen zu beobachten, daß die osmiophilen Schichten wieder aus 2 Lamellen aufgebaut sind (Abb. 2). Da die Dicke der osmiophilen Schichten bereits zwischen 65 und 75 Å liegt, ist eine Messung für ihre Einzellamellen nicht mehr

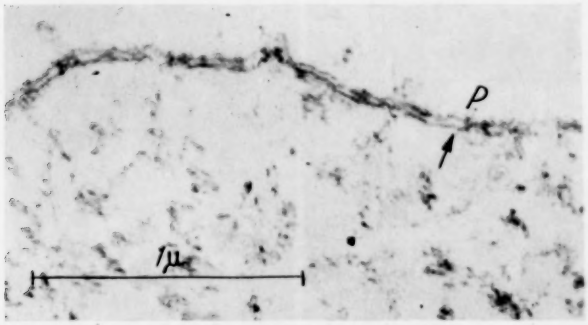



Abb. 2. *Cucumis sativus*, Kerngrenzschichten eines Interphasenkernes. Streckenweise ist die Aufspaltung der osmiophilen Schichten in zwei Einzellamellen sichtbar (Pfeil). Innerhalb eines Porus (*P*) ist der getrennte Verlauf der beiden osmiophilen Schichten zu sehen. Fix.: 1 % gep. $OsO_4$; Kontr.: 1 % $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 8000

möglich. — Bei noch weiterer Auflösung sind die osmiophilen Schichten und ihre Einzellamellen nicht mehr eindeutig als Lamellen zu beschreiben, da sich auf ihnen eine Querstruktur zeigt, die nicht weiter analysiert werden kann.

Die Größenangaben über die Kerngrenzschichten beziehen sich auf Kerne, deren doppelte Grenzschichten möglichst lange Strecken parallel liefen. Messungen an Kernen, die nach ihrem gesamten Erscheinungsbild zwar gut fixiert sind, bei denen aber die einzelnen osmiophilen Schichten nicht durchgehend parallel verlaufen, zeigen eine Schwankungsbreite der Dicke des Grenzschichtensystems zwischen 170 und 450 Å. Nach Kontrastierung in wäßriger Phosphorwolframsäure weichen die 2 osmiophilen Schichten sogar so weit auseinander, daß die gesamte Grenzschichtendicke Werte bis 2100 Å annehmen kann. Diese Erscheinung trifft jeweils nur für kurze Strecken der Kerngrenzschichten zu und ist an den Poren kaum zu beobachten. Außerdem ist zu erkennen, daß nicht beide osmiophile Schichten die gleiche Abweichung aus ihrer Normallage zeigen, sondern die äußere von diesem Vorgang stärker betroffen ist. Eine Deformation der Einzellamellen konnte nicht festgestellt werden.

*b) Kernporen.* Die Kernporen als Sonderausbildungen der Kerngrenzschichten können in Tangential- (Abb. 3a) und Längsschnitten beobachtet werden. In der Aufsicht ist besonders der Annulus als ± runder, osmiophiler Ring sichtbar. Er umgibt das Porusinnere, das diffus kontrastiert ist und häufig im Zentrum noch eine dunkle Zone besitzt. Der Annulus zeigt eine Struktur, die in radiärer Richtung abwechselnd stark und schwach kontrastierte Elemente erkennen läßt. Der Durchmesser der Poren einschließlich Annulus schwankt zwischen 700 und 1200 Å,

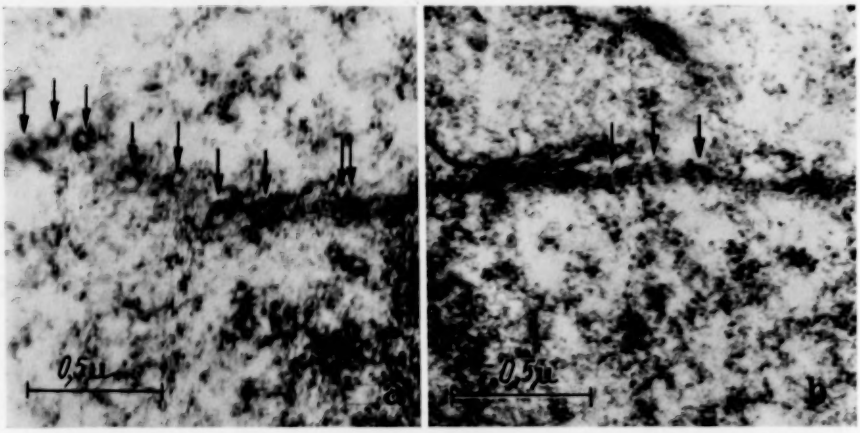



Abb. 3a u. b. *Cucumis sativus*, Kerngrenzschichten mit Poren. a Tangential getroffene Poren (Pfeile), in einem Porus (Doppelpfeil) ein kontrastiertes Zentrum. b Längs getroffene Poren (Pfeile) mit vier sehr feinen, durchziehenden Lamellen. Fix.: 1 % gep. $OsO_4$; Kontr.: 1 % $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 8000

die inneren Ausmaße liegen zwischen 300 und 600 Å. Für die Breite des Annulus wurden 150—300 Å und für den Durchmesser des osmiophilen Zentrums 200—250 Å gemessen. — Im Längsschnitt durch die Kernporen sind abgesehen davon, daß in keinem Falle eine wirkliche Durchbrechung der Schichten beobachtet werden konnte, zwei verschiedene Ansichten der Kernporen zu erkennen. Im ersten Fall nähern sich im Porusbereich die beiden osmiophilen Grenzschichten; sie laufen so eng zusammen, daß der Porus von einer einzigen Schicht (Abb. 1) verschlossen scheint. An günstigen Stellen ist jedoch zu sehen, wie beide osmiophile Schichten nur nach innen einbiegen, im Bereich des Porus im Abstand von ca. 50 Å parallel verlaufen und dann wieder auseinanderweichen (Abb. 2). — Der Porusraum ist außerdem ausgefüllt mit schwach kontrastierten fädigen Elementen, die besonders dicht am Rande des Porus liegen. — Messungen für den Porusdurchmesser an diesen Schnittbildern ergeben dieselben Werte wie in Tangentialschnitten. — Häufiger sieht man in Längsschnitten durch die Kerngrenzschichten, daß den Porus 4 sehr feine, mittelstark kontrastierte Lamellen durchziehen (Abb. 3b).

Ihre Gesamtbreite ist ungefähr gleich der Breite des Kerngrenzschichtensystems, während ihr Abstand voneinander nicht konstant ist. Exakte Größenangaben zu machen, ist innerhalb dieser Dimensionen nicht mehr möglich; außerdem können die sehr feinen Lamellen beim Schneiden leicht verschoben werden. Über und unter ihnen sind dieselben diffusen, fädigen Elemente zu finden, wie sie im ersten Fall für den Porusraum beschrieben wurden. Ob sie auch zwischen den einzelnen Lamellen liegen, ist nicht zu entscheiden. An den Porenrändern ist der Kontrast durch die Annuluselemente stärker. Messungen der Porendurchmesser nach diesen Längsschnitten streuten zwischen den Werten 200 und 600 Å.

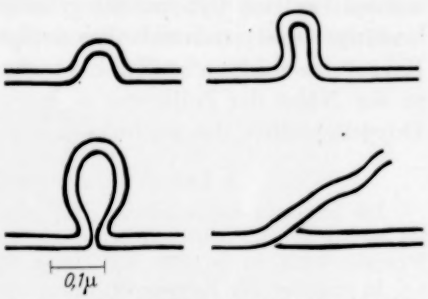



Abb. 4. Schematische Darstellung der fortschreitenden Ausstülpung beider osmiophiler Kerngrenzschichten

*c) Ausstülpungen der Kerngrenzschichten.* Außer den Kernporen fallen als Sonderausbildungen der Kerngrenzschichten Ausstülpungen auf, an denen nur die äußere osmiophile Schicht oder beide beteiligt sind. Wenn sich beide osmiophile Schichten nach außen vorstülpen, wird ihre Öffnung

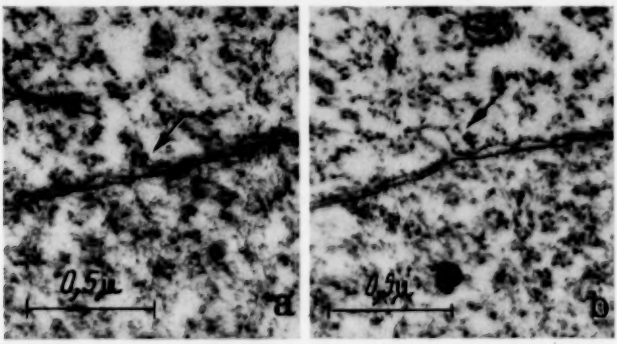



Abb. 5a u. b. *Cucumis sativus*, Kerngrenzschichten mit fortschreitender Ausstülpung (Pfeil) der äußeren osmiophilen Schicht. Fix.: 1 % gep. $OsO_4$; Kontr.: 1 % $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 8000

zum Kernraum immer enger (Abb. 4). Gleichzeitig wird von beiden Seiten im Inneren der Ausstülpung schwach kontrastierte Substanz abgelagert, so daß die Ausbuchtung ganz abgeschlossen werden kann. Auch wenn nur eine Schicht ausgestülpt wird, ergeben sich für diese die gleichen Bilder (Abb. 5). Eine Substanzanlagerung ist jedoch nicht zu beobachten.

Die Ausstülpungen stehen senkrecht zur Kernoberfläche oder liegen ihr in einem spitzen Winkel an. Die senkrecht stehenden Vorwölbungen

reichen bis zu 2000 Å ins Cytoplasma; ihre breitesten Stellen sind 700 bis 1300 Å, die sich am Grunde auf 300—500 Å verengen.

Diese Beobachtungen lassen vermuten, daß die Ausstülpungen in ihrer weiteren Entwicklung von den Kerngrenzschichten abgetrennt werden und ins Cytoplasma gelangen. Diese Annahme wird dadurch bestätigt, daß vereinzelt eine aufgerissene Ausstülpung noch mit den Kerngrenzschichten in Zusammenhang steht. Außerdem sind besonders in der Nähe der Zellkerne ± parallel zu ihren Grenzschichten kurze Doppellamellen, das endoplasmatische Reticulum, zu finden (Abb. 12).

### *2. Der Nucleolus und die Chromozentren*

Die Struktur der Nucleolen, ihre chemische Zusammensetzung und Funktion ist bereits in zahlreichen Arbeiten untersucht (ausführliche Literaturangaben bei VINCENT 1955, STICH 1956 und HERTL 1957).

In jüngster Zeit interessiert besonders der Aufbau des Nucleolus aus verschiedenen Bestandteilen. Mit Hilfe des Interferenzmikroskopes und der UV-Absorption wurden 2 Substanzen festgestellt, die eine unterschiedliche Lichtbrechung und Absorption zeigen (ZIRKLE 1931, DAVIES u. a. 1954). Nach Beobachtungen an pflanzlichen und tierischen Zellen im Hellfeld werden die verschiedenen Nucleolusbestandteile als fädige „Nucleolonema" und „Pars amorpha" beschrieben (ESTABLE u. SOTELO 1951 und 1954, LETTRÉ 1954 und 1956).

Elektronenmikroskopisch wurden entsprechende Strukturen vorwiegend in normalen und pathologisch veränderten tierischen Zellen und in Zellen verschiedener physiologischer Zustände beobachtet. Der starke Kontrast und die Struktur der Nucleolonema werden erklärt durch eine Ansammlung von „osmiophilen Granula", durch einen „spiraligen Verlauf von Fibrillen", denen osmiophile Granula aufgelagert sind und durch den Aufbau aus „helically coiled filaments" (Lit. hierzu vgl. HERTL 1957, außerdem HORSTMANN u. KNOOP 1957, HORSTMANN 1958, YASAZUMI u. a. 1958).

Bei pflanzlichen Objekten findet ROSSNER (1959) in Zellkernen von *Sinapis alba* Nucleolonema-Fäden. Nach anderen Beobachtungen an pflanzlichen Nucleolen wird ein sehr dichter Aufbau beschrieben aus „Reihen globulärer Elemente" (SITTE 1958), aus „fibrillären Elementen" (BOPP-HASSENKAMP 1959) oder aus „dicht schraubig gewundenen, stark uranophilen Fäden" (STRUGGER 1960).

Abgesehen von den „Nucleolonema" und der „Pars amorpha" wird eine Differenzierung des Nucleolus in Rindenschicht und zentralen Bereich und das Vorkommen von auffallend dichten Partikeln innerhalb des Nucleolus beschrieben (LAFONTAINE 1958a , 1959b, PORTER 1960).

Am Nucleolus und im übrigen Kernraum liegen bei manchen Objekten Chromozentren. Diese sind nach HEITZ (1929) „heterochromatische Chromosomenpartien, die im Anschluß an die Kernteilung die für die euchromatische Region charakteristische Entspiralisierung nicht erfahren". Nach dem Auffinden verschiedenen Heterochromatins ist diese Definition in ihrer Einfachheit nicht mehr streng gültig (HEITZ 1955, 1957). TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA (1953) beschreiben lichtmikroskopisch „Chromozentren mit glatten Konturen", mit „unruhigen Konturen" und solche, die eine „Ansammlung kleiner, kugeliger Gebilde" darstellen. Aus der Tatsache unterschiedlichen Chromozentrenkontrastes schließt auch ROSSNER (1959) auf verschiedenes Heterochromatin in Interphasenkernen.

*a) Feinbau des Nucleolus.* Der Nucleolus erscheint in den Interphasenkernen von *Cucumis sativus* als ± rundes Gebilde (Abb. 1). Hervorzuheben ist, daß er in der Prophase nicht immer aufgelöst wird,

sondern sich in der Metaphase hantelförmig streckt und seine Teile zu den Zellpolen wandern. Eine Grenzschicht zwischen Nucleolus und Kernraum ist nie zu beobachten.

Nach Osmiumtetroxydfixation und zusätzlicher Kontrastierung mit Uranylacetat oder Phosphorwolframsäure stellt er den am stärksten kontrastierten Zell- und Kernbestandteil dar. Die Strukturelemente der Nucleolen (Abb. 6) sind ungleichmäßig in der Schnittebene sich windende

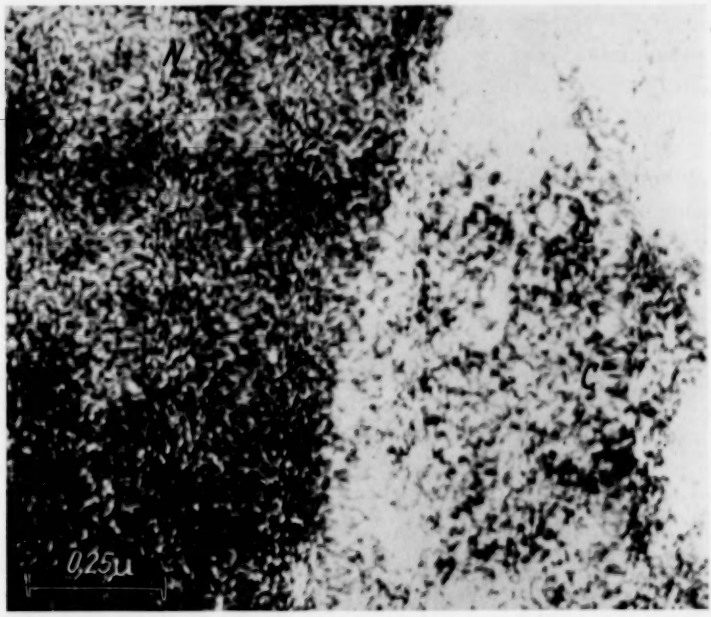



Abb. 6. *Cucumis sativus*, Ausschnitt aus einem Nucleolus (*N*) und einem angrenzenden Chromozentrum (*C*). Der Aufbau beider Kernbestandteile aus schraubig gewundenen Fäden ist sichtbar. Fix.: 1 % gep. $OsO_4$; Kontr.: 1 % $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 20000

Fäden, die dieselben Bilder zeigen, wie STRUGGER (1957a, 1957b, 1957c) sie für die sublichtmikroskopischen Strukturelemente des Cytoplasmas, zu denen ausführliche Modelluntersuchungen gemacht wurden, beschreibt. Nach den vorliegenden Abbildungen handelt es sich bei den Strukturelementen der Nucleolen ebenfalls um schraubig gewundene Fäden von 120—140 Å Breite[1]. Der Durchmesser der Schrauben, zu

[1] Bei der Bestimmung der Breite der Fadenelemente taucht folgendes Problem auf. Zu einer genauen statistischen Auswertung müßten in zahlreichen Kernen verschiedener Fixationsserien in einem bestimmten Ausschnitt, z.B. 1 cm², sämtliche Strukturelemente ausgemessen werden. Hierbei stößt man aber wegen der Schnittdicke und der nicht immer gleichmäßigen Bildschärfe auf zahlreiche Schwierigkeiten. Diese sind noch größer bei der Messung der Abstände der Fadenelemente, da die Entfernung auch von der Schnittrichtung abhängig sein kann. Es wurden daher die zu Messungen günstigen Stellen, mindestens 100, herausgesucht, und darüber hinaus weitgehend der Gesamtaspekt beachtet.

denen die Fäden aufgewickelt sind, ist wegen der dichten Lagerung nicht festzustellen. In den 120—140 Å breiten Fadenelementen ist als Untereinheit ein 70—80 Å breiter Faden zu erkennen, der wieder schraubig gewunden ist. Es liegt also eine hierarchisch aufgebaute Schraubenordnung vor, die sich in kleineren und größeren Dimensionen noch fortsetzen kann.

Die stark kontrastierten Fäden zeigen seitlich anliegend noch weitere, schwach kontrastierte Elemente. Es entsteht der Eindruck, als ob diese den stark kontrastierten Faden wie einen Mantel umgeben. Wegen des starken Kontrastes der zentral liegenden Elemente läßt sich aber nicht mit Sicherheit sagen, ob sie wirklich von Elementen mit schwächerem Kontrast umgeben sind oder ob sie ihnen nur seitlich anliegen. Die Breite der schraubig gewundenen Fäden einschließlich ihrer seitlich anliegenden schwach kontrastierten Zonen beträgt ungefähr das 3fache Ausmaß des stark osmiophilen mittleren Elementes.

Die beschriebenen Nucleoluselemente lassen keine bevorzugte Längs- oder Querrichtung in ihrer Orientierung erkennen. Eine häufig beobachtete gerichtete Lage ist auf mechanische Veränderungen durch die Herstellung der Ultradünnschnitte zurückzuführen.

*b) Unterschiedlich dichte Nucleolen.* Die Anordnung der schraubig gewundenen Strukturelemente bedingt unterschiedliche Aspekte der Nucleolen, so daß in ihrem Aufbau alle Übergänge von sehr dichter bis zu weitgehend aufgelockerter Struktur zu erkennen sind. Man kann folgende Ausbildungen unterscheiden: 1. gleichmäßig stark kontrastierte Nucleolen mit vereinzelten „vacuolenartigen" Arealen, 2. gleichmäßig aufgelockerte, deutlich kontrastierte Nucleolen, 3. aufgelockerte, deutlich kontrastierte Nucleolen mit ± großen, schwach kontrastierten Arealen.

In den gleichmäßig stark kontrastierten Nucleolen (Abb. 1 und 7) liegen die schraubig gewundenen Strukturelemente sehr dicht; sie sind höchstens um ihre Eigenbreite voneinander entfernt. Vereinzelt kommen in solchen Nucleolen „Vacuolen" vor (Abb. 7). Diese Stellen sind Bezirke innerhalb der Nucleolen mit auffallend schwachem Kontrast. Bereits lichtmikroskopisch lassen sich in Präparaten, die mit Safranin-Lichtgrün gefärbt sind, oder in überfärbten Carminessigsäurequetschpräparaten schwächer gefärbte Areale, deren Ausmaße mit den elektronenmikroskopisch beobachteten „Vacuolen" übereinstimmen, in den Nucleolen sichtbar machen. Im elektronenmikroskopischen Bild erkennt man in diesen Bezirken stark und schwach kontrastierte, schraubig gewundene Strukturelemente, die genauso breit sind wie die Elemente in dem stark kontrastierten Bereich, die in den hellen Arealen jedoch bis zu 300 Å auseinanderliegen. Die Größe der genannten „Vacuolen", die in Ein-, Zwei- oder Dreizahl vorkommen, liegt in der Längenausdehnung zwischen 0,5 und 1,1 $\mu$ und in der Breite zwischen 0,3 und 0,4 $\mu$. Die „Begrenzung" der „Vacuolen"

zum Nucleolus ist sehr gleichmäßig, ebenso die „Begrenzung" des Nucleolus zum Kernraum.

Andere Nucleolen sind gleichmäßig aufgelockert. Ihre stark und schwach kontrastierten Strukturelemente gehen kontinuierlich ineinander über. Ausmessungen der hellen Bezirke ergeben, daß sie in der Längs- und Querausdehnung durchschnittlich 0,2—0,4 $\mu$ groß sind.

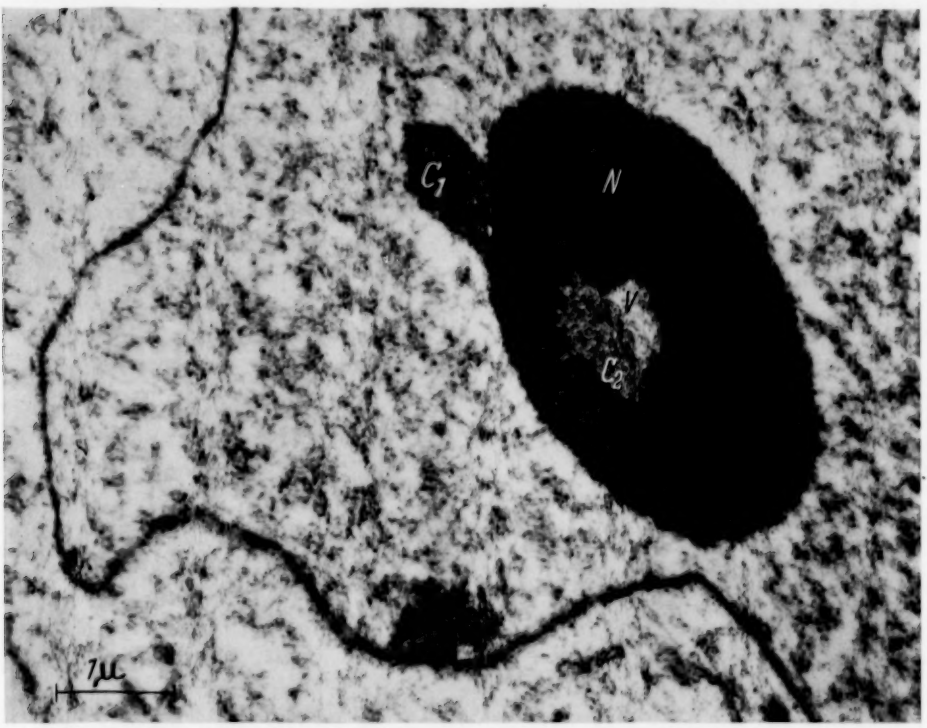



Abb. 7. *Cucumis sativus*. Ausschnitt aus einem Interphasenkern. Der Nucleolus ($N$) zeigt eine „Vacuole" ($V$), ein anliegendes Chromozentrum ($C_1$) und chromosomale Substanz ($C_2$) im Innern. Fix.: 1 % gep. $OsO_4$; Kontr.: 1 % $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 8000

Die Strukturelemente liegen im dunkel kontrastierten Bereich 150 bis 350 Å auseinander und in den hellen Bezirken 250—800 Å. Die „Begrenzung" des Nucleolus zum Kernraum ist nicht so scharf wie bei den gleichmäßig stark kontrastierten Nucleolen.

Bei der 3. Gruppe der Nucleolen ist die Auflockerung noch weiter fortgeschritten. In diesen Kernkörperchen liegen zahlreiche helle Areale. Entweder kommt eine große, fast zentral gelegene „Vacuole" mit mehreren kleinen „Vacuolen" im übrigen Bereich vor oder nur zahlreiche kleine „Vacuolen". Die Ausdehnung des zentralen Gebietes liegt in der Länge zwischen 1,7 und 4,6 $\mu$ und in der Breite zwischen 1,1 und 2,8 $\mu$. Die

kleinen „Vacuolen" sind 1,5 $\mu$ lang und bis 0,5 $\mu$ breit. Die Strukturelemente dieser Nucleolen sind ebenfalls schraubig gewundene Fäden, die im stark osmiophilen Bereich 100—350 Å und in den hellen Bezirken 300—500 Å voneinander entfernt liegen. Ein Unterschied zwischen den Elementen der großen und kleinen „Vacuolen" ist nicht festzustellen. Die „Begrenzung" dieser Nucleolen zum Kernraum ist noch ungleichmäßiger als bei der vorigen Gruppe. Durch diese Ausbildung erscheint der Nucleolus nicht mehr so einheitlich und in sich geschlossen.

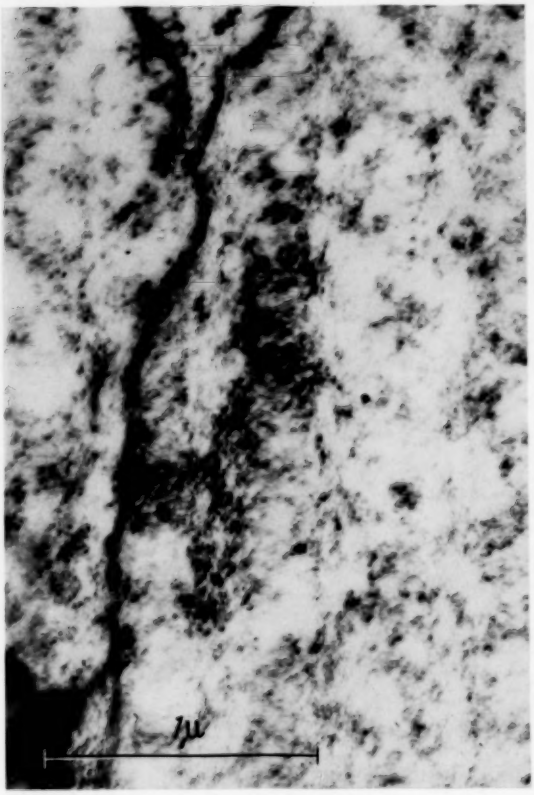


Abb. 8. *Cucumis sativus*, Chromozentrum an der Kernperipherie. Der schraubige Aufbau des Chromozentrums von den Subchromonemata bis zur Chromozentrenschraube ist sichtbar (vgl. Text). Fix.: 1 % gep. $OsO_4$; Kontr.: 1 % $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 8000

*c) Aufbau und Lage der Chromozentren.* In den meisten Zellkernen sind in Verbindung mit dem Nucleolus und an der Kernperipherie Chromozentren zu beobachten. Ihr Kontrast ist nach Osmiumtetroxydfixation etwas geringer als der des Nucleolus (Abb. 1, 7—9). Sie bestehen ebenfalls aus schraubig gewundenen Fäden, den Subchromonemata, die 130 bis 150 Å breit sind. In den Subchromonemata ist wieder ein 70 bis 80 Å breiter, ebenfalls schraubig gewundener Faden zu erkennen. An günstig gelegenen Chromozentren ist ihr Aufbau von den Subchromonemata bis zur lichtmikroskopisch sichtbaren Chromonemawindung zu verfolgen (Abb. 8). Die Subchromonemata sind aufgeschraubt zu 500—600 Å breiten Chromonemafäden, welche wiederum das 0,25—0,3 $\mu$ breite Chromozentrum aufbauen.

Die beschriebenen Chromozentren liegen in Falten und Ausstülpungen der Kernoberfläche und an gleichmäßig ausgebildeten Stellen. Sie können mit ihrer Breit- oder Langseite an die Kerngrenzschichten stoßen. Am

Nucleolus liegen die Chromozentren im allgemeinen mit ihrer Breitseite. Sämtliche Chromozentren zeigen keinerlei Begrenzung, obwohl sie im Lichtmikroskop in den Interphasenkernen deutlich begrenzt erscheinen.

Bei einzelnen Chromozentren an der Kerngrenzschicht, und zwar besonders dann, wenn die Chromozentren eine Verbindung zwischen Nucleolus und Kerngrenzschicht herstellen, ist zu beobachten, wie schraubig gewundene Fäden, die denen der Chromozentren entsprechen, auch ins Cytoplasma führen. Es scheint, als ob ein Teil des Chromozentrums aus dem Kern heraustritt. Ob dabei die Verbindung zwischen Kern und Cytoplasma nur durch die Kernporen hergestellt wird oder noch weitere Öffnungen ausgebildet sind, ist nicht zu entscheiden.

*d) Verbindung von Nucleolus und Chromozentren.* Die Chromozentren am Nucleolus liegen ihm entweder nur an oder werden wenigstens teilweise von ihm eingeschlossen (Abb. 7). Daß es sich bei diesen Chromozentrenfortsätzen um chromosomale Substanz handelt, ist daraus zu schließen, daß die chromosomalen Bestandteile ausschließlich in Fortsetzung eines Chromozentrums zu beobachten sind, daß sie den für die Chromozentren entsprechenden Kontrast zeigen und aus denselben Strukturelementen aufgebaut sind. Dabei ist jedoch vorläufig noch offenzulassen, ob es sich im Nucleolus um genau dieselbe Substanz handelt wie außerhalb. Ein feulgenpositives Chromozentrum im Nucleolus konnte lichtmikroskopisch nicht beobachtet werden.

Die chromosomale Substanz kann den ganzen Nucleolus durchziehen (Abb. 9). In Fällen, wo sie nur teilweise im Nucleolus zu verfolgen ist (Abb. 7), kann man sie sich in anderen Ebenen fortgesetzt denken.

*e) Verschieden kontrastierte Chromozentren innerhalb eines Zellkernes.* Die Chromozentren zeigen nach Osmiumtetroxydfixation nicht immer dasselbe Aussehen. In Zellkernen mit stark aufgelockerten Nucleolen liegt ein kleines, stärker kontrastiertes Chromozentrum jeweils dem Nucleolus an, während alle übrigen größer sind und schwächer kontrastiert erscheinen. Das dunkle Chromozentrum ist rundlich und gleicht im Aufbau dem Nucleolus. Alle anderen Chromozentren sind aufgelokkert und in die Länge gestreckt.

In Zellkernen nach Altmann-Fixation (Abb. 10) wird ein Unterschied im Chromozentrenkontrast noch deutlicher. In diesen Präparaten stellen die Chromozentren im allgemeinen die hellsten Kernbestandteile dar. Sie bestehen nach dieser Fixation ebenfalls aus schraubig gewundenen, sehr feinen Fäden, deren Breite zwischen 65 und 85 Å liegt; sie sind 100—1000 Å voneinander entfernt.

Die schwach kontrastierten Chromozentren liegen an den Kerngrenzschichten und am Nucleolus. Daneben kommt am Nucleolus nach Altmann-Fixation ein weiteres Chromozentrum mit starkem Kontrast vor, das denselben Aufbau zeigt wie die Chromozentren nach Osmiumfixation.

Der Lage nach handelt es sich hier um dasselbe Chromozentrum, das bereits nach Osmiumfixation durch seinen stärkeren Kontrast auffällt. Es liegt dem Nucleolus nicht immer in ganzer Breite an, sondern kann nur durch

Abb. 9. *Cucumis sativus*. Ausschnitt aus einem Interphasenkern. Dem Nucleolus ($N$) liegt ein Chromozentrum mit mehrfach schraubigem Bau an ($C_1$). Im Innern des Nucleolus ebenfalls chromosomale Substanz ($C_2$), die diesen ganz durchzieht. Fix.: 1% gep. $OsO_4$; Kontr.: 1% $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 8000

einen Steg mit ihm verbunden sein. Diese Beobachtung spricht für einen engen Zusammenhang zwischen beiden Kernbestandteilen.

*f) Aufbau des Nucleolus aus 2 Komponenten.* Eine noch stärkere Verbindung mit dem Nucleolus weisen die schwach kontrastierten Chromo-

Abb. 10. *Cucumis sativus*, Interphasenkern. Der Nucleolus zeigt verschieden stark kontrastierte Zonen. Außerdem treten innerhalb dieses Kernes verschieden kontrastierte Chromozentren ($C_1$ und $C_2$) auf. Fix.: Altmann; Kontr.: 1 % $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 8000

zentren auf, die dem Nucleolus anliegen. Die Nucleolen selbst zeigen nach Altmann-Fixation deutlich Zonen mit unterschiedlichem Kontrast. Die Bezirke mit schwächerem Kontrast sind nicht den oben beschriebenen „Vacuolen" gleichzusetzen. Diese kommen im schwach und stark

kontrastierten Bereich zusätzlich vor. Die hier erwähnten schwächer kontrastierten Areale sind relativ groß; bis auf eine schmale Randzone können sie sogar den ganzen Nucleolus ausfüllen. In den meisten Nucleolen geht dieser Bezirk am Rande der Kernkörperchen in ein schwach kontrastiertes Chromozentrum über (Abb. 10). Die hellen Nucleolenbereiche zeigen verschiedene Formen (Abb. 11), die durch die Schnittrichtung zu erklären sind. Man kann sich vorstellen, daß der ganze Nucleolus aus dichten, breiten Fäden aufgebaut ist, die ineinander verschlungen sind und im Schnitt diese Ansichten ergeben.

Abb. 11. Schematische Darstellung einiger Nucleolen mit der Verteilung ihrer stark und schwach kontrastierten Bezirke nach Altmann-Fixation

Der beschriebene Aufbau des Nucleolus wird in Mitosekernen noch deutlicher. In verschiedenen Teilungsstadien, deren Stadium nicht genau zu bestimmen war, ist der Nucleolus weitgehend aufgelockert (Abb. 12). Man erkennt jetzt auch nach Osmiumfixation seinen Aufbau aus Elementen, die im Schnitt als 1500 Å breite Bänder erscheinen. Die Strukturelemente dieser Bänder sind wie in allen anderen Nucleolen schraubig gewundene Fäden von 130—150 Å Breite. Die genannten Bänder durchziehen vom Nucleolus ausgehend den ganzen Kernraum. Diese Gebilde bestehen, wie aus dem Vergleich mit anderen Stadien zu schließen ist, wahrscheinlich aus chromosomaler Substanz und sind dieselben wie die schwach kontrastierten Bereiche in den Nucleolen nach Altmann-Fixation. Die Veränderung in ihrer Breite ist durch mitotische Umwandlungen von Nucleolus und Chromozentren zu erklären.

### *3. Der Kernraum*

Im Falle der Chromozentrenkerne soll unter Kernraum der aus Caryolymphe und Caryotin bestehende Innenraum des Zellkernes außer Nucleolus und Chromozentren verstanden werden. Seine Strukturelemente

sind nach SITTE (1958) Mikrofibrillen von 60—200 Å Durchmesser, neben denen globuläre Elemente liegen. STRUGGER (1960) beschreibt im Kernraum diffus verteiltes Chromatin, dessen Fadenelemente durch stärkeren Kontrast hervortreten.

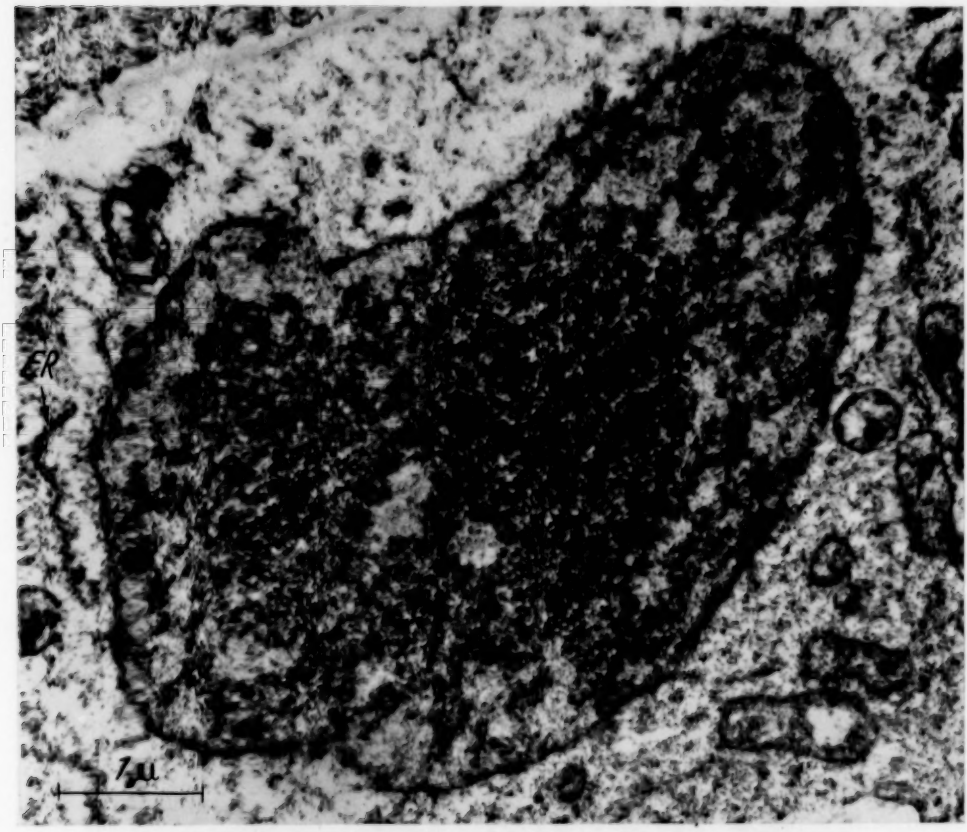



Abb. 12. *Cucumis sativus*, Teilungskern. Der aufgelockerte Nucleolus besteht unter anderem aus breiten Bändern, die sich in den ganzen Kernraum hinein fortsetzen. Neben dem Kern ein endoplasmatisches Reticulum (*ER*). Fix.: 1% gep. $OsO_4$; Kontr.: 1% $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 8000

Der Kernraum in Zellen von *Cucumis sativus* erscheint lichtmikroskopisch homogen und zeigt nach der Feulgen-Reaktion eine diffus rötliche Färbung. Im elektronenmikroskopischen Bild besitzt der Kernraum nach Osmiumfixation den geringsten Kontrast; er ist sogar heller als das Cytoplasma. Nach Altmann-Fixation liegt sein Kontrast zwischen dem des Nucleolus und der Chromozentren. Seine Strukturelemente sind schraubig gewundene Fäden von 120—140 Å Breite. Ihr Abstand ist sehr variabel; er schwankt zwischen 100 und 1500 Å. In der Anordnung der Fäden ist gelegentlich eine Orientierung zu erkennen. Diese gerichteten

Fäden sind innerhalb des Kernraumes zwischen Chromozentren untereinander und Nucleolus und Chromozentren zu beobachten. Daraus ist wieder ein deutlicher Zusammenhang zwischen den einzelnen Kernbestandteilen zu erkennen.

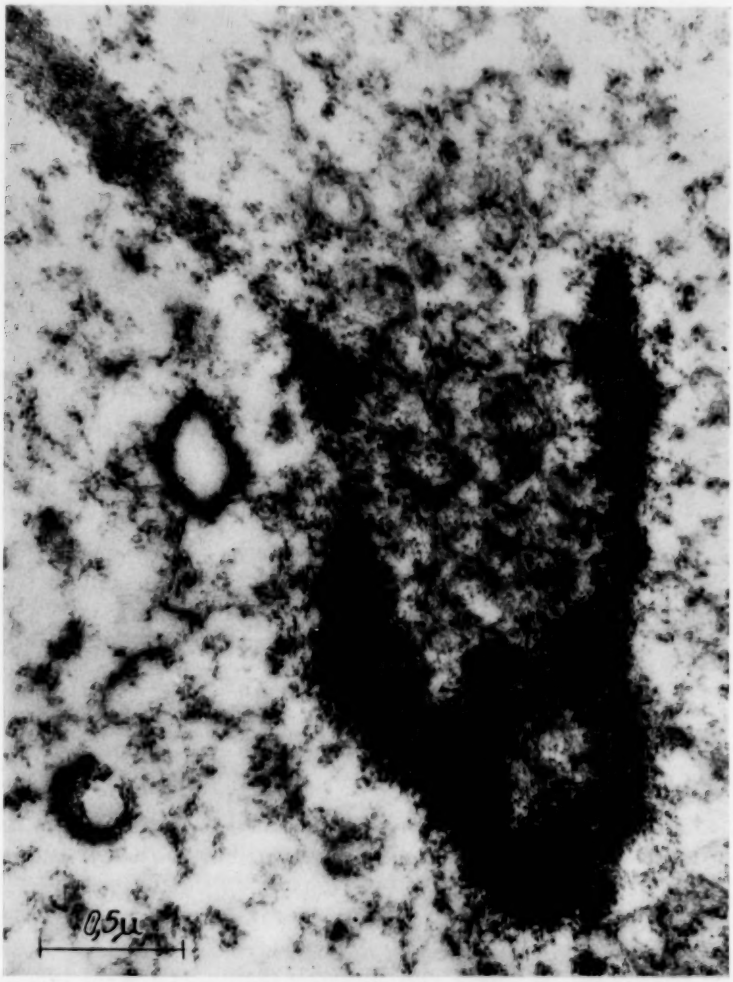



Abb. 13. *Cucumis sativus*, Längsschnitt durch ein Chromosom. Fix.: 1 % gep. $OsO_4$; Kontr.: 1 % $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 20 000

### *4. Die Chromosomen*

Nach den elektronenmikroskopischen Untersuchungen an tierischen und pflanzlichen Chromosomen bestehen verschiedene Meinungen über ihren Aufbau (vgl. MÜHLETHALER 1959). Auch die jüngsten Beobachtungen an Chromosomen (CANEFORT 1959, SCHLOTE 1959, SHINKE 1959, NEBEL 1960, RIS 1960) ergeben noch keine einheitliche Auffassung über ihren submikroskopischen Bau.

Die Chromosomen von *Cucumis sativus* wurden in Längs- und Querschnitten (Abb. 13 und 14) getroffen. Im Chromosomenquerschnitt wird in der Mitte eine schwächer kontrastierte Stelle sichtbar. Nach den lichtmikroskopischen Vorstellungen vom Chromosomenbau ist dies die zentrale Achse, um die die Chromonemata geschraubt sind.

Der Chromosomenfeinbau läßt bei den Anschnitten aller Chromosomen 2 verschiedene Bereiche erkennen. Den Hauptanteil bilden sehr dicht gelagerte, schraubig gewundene Fäden mit auffallend einheitlicher

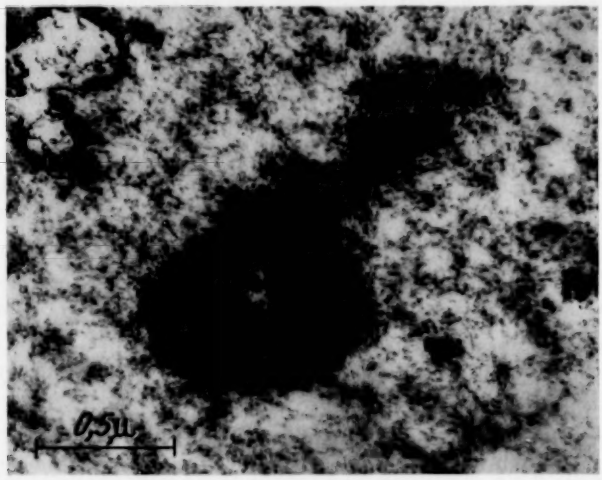



Abb. 14. *Cucumis sativus*, Querschnitt durch ein Chromosom. Fix.: 1 % gep. $OsO_4$; Kontr.: 1 % $UO_2$ (alk.); Prim.-Vergr.: 20 000

Breite von 50 Å, die keine weitere Orientierung erkennen lassen. Sie sind weniger als 30 Å voneinander entfernt. An diese Elemente schließt sich nach außen eine 600—700 Å breite Randzone an, deren schraubig gewundene Strukturelemente 100—120 Å breit sind und 60—200 Å auseinanderliegen. Die beiden Zonen sind scharf voneinander getrennt. Von den breiteren Elementen führen keine ins Innere des Chromosoms hinein; die schmaleren sind dagegen in geringer Zahl auch in der Randzone anzutreffen. Der Übergang von der Chromosomenrandsubstanz vollzieht sich allmählich. Im angrenzenden Cytoplasma sind dieselben Elemente wie in der Chromosomenperipherie zu beobachten. Mit zunehmender Entfernung vom Chromosom liegen sie lockerer.

Der weitere Aufbau der Chromosomenelemente bis zu lichtmikroskopischen Dimensionen ist wegen der großen Dichte nicht zu erkennen. Eine Matrix nach lichtmikroskopischen Vorstellungen konnte nicht beobachtet werden.

## Besprechung der Ergebnisse

Der Aufbau der einzelnen osmiophilen Kerngrenzschichten aus jeweils 2 Lamellen (zuerst SITTE 1958) ist neben ihrer Beobachtung an deutlichen Membranstellen besonders durch ihre Existenz und den gleichmäßigen Abstand innerhalb der Kernporen gesichert.

Die im Vergleich mit anderen pflanzlichen Objekten abweichenden Durchmesser der Kernporen (MARINOS 1960) bei *Cucumis sativus* können einerseits durch die verschiedenen zentralen und peripheren Schnittrichtungen durch die Poren erklärt werden. Andererseits wird durch die verschiedenen Meßergebnisse die Frage aufgeworfen, ob ihre Ausbildung für eine Art charakteristisch ist oder ob sie von der Teilungsbereitschaft und der physiologischen Aktivität der Zellkerne abhängig ist.

Die Beurteilung, ob die Kernporen wirklich offen sind, oder ähnliche Ausbildungen wie semipermeable Membranen besitzen, ist wesentlich von der Schnittrichtung und der Fixation abhängig. Im radialen Längsschnitt durchziehen den Porus 2 dünne, osmiophile Schichten, die an ungünstigen Stellen zusammenhängend erscheinen. Der Porendurchmesser ist in diesen Abbildungen genauso groß wie in den Poren, die tangential getroffen sind und als runde Kreise erscheinen. Das Vorkommen von 2 Schichten im Porus kann daher nicht durch einen Schnitt erklärt werden, der in der Längsrichtung nahe der Peripherie durch den Porus geführt ist, und bei dem die Kerngrenzschichten durchscheinen (BARNES u. DAVIES 1959). Der kontinuierliche Verlauf der einzelnen Schichten bei ihrem Übergang in den Porusbereich, wo sie sich einander nähern, ist genau zu verfolgen. Handelte es sich um durchscheinende Kerngrenzschichten, so müßte ihr Abstand im Porusbereich derselbe sein wie an den übrigen Stellen der Grenzschichten. Für „geschlossene" Poren spricht auch der starke Zusammenhang, der zwischen den Schichten innerhalb der Poren und der übrigen Kernbegrenzung bei einer mechanischen Verzerrung erhalten bleibt.

Der enge Kontakt der einzelnen Schichten im Bereich der Kernporen kann zusätzlich durch die Annulussubstanz bedingt sein. Im Aufbau des Annulus kann bei *Cucumis sativus* nur von einer radiär verlaufenden feinen Struktur gesprochen werden, die zwar keine Anordnung von 6 bis 8 Subannuli (WISCHNITZER 1958, vgl. MARINOS 1960), jedoch eine größere Ordnung als die Ansammlung von Meiosomen (SITTE 1958) oder granuläre Struktur (GRIMSTONE 1959) erkennen läßt.

Das stark kontrastierte Porenzentrum entspricht in seiner Dichte den Messungen von KAUTZ und DE MARSH (1954, vgl. MARINOS 1960) an Zellkernen von *Küken-Embryonen*, die für den Porusbereich eine größere Dichte ergaben als für die Kerngrenzschichten. Danach muß im Porusinnern eine zusätzliche Substanz liegen. Es können fädige Elemente sein wie jene, die den Annulus aufbauen und vereinzelt auch in Längsschnitten innerhalb der Poren zu finden sind, oder Substanz, die vom Kern ins

Cytoplasma zieht. Die letzte Erklärung ist möglich, weil Annuli mit dunklem Zentrum vorwiegend in Chromozentrennähe liegen. Das entspricht zahlreichen Vorstellungen (vgl. ausführliche Literaturangaben bei HERTL 1957), wonach der Substanzaustausch zwischen Kernsubstanz und Cytoplasma im Bereich des Heterochromatins stattfinden soll.

Ein Zusammenhang der Kerngrenzschichten mit den Doppellamellen des Cytoplasmas, die meistens als endoplasmatisches Reticulum bezeichnet werden, ist nach ihrem Aufbau und ihrer Größe zu fordern. Die Beobachtung fortschreitender Ausstülpung und Abschnürung der Kerngrenzschichten, die GRIMSTONE (1959) theoretisch forderte, führt zu dem Schluß, daß auf diese Weise das endoplasmatische Reticulum entsteht. Dabei ist allerdings vorauszusetzen, daß größere Flächen der Kerngrenzschichten abgestoßen werden, da das endoplasmatische Reticulum ein verzweigtes, zusammenhängendes System durch die ganze Zelle darstellen soll (HODGE u. a. 1956). Es ist denkbar, daß Bestandteile der Kerngrenzschichten aus der Prophase an der Bildung des endoplasmatischen Reticulums beteiligt sind. Solche Beobachtungen sind von AFZELIUS (1954, vgl. MARINOS 1960) an *Seeigel-Oocyten* beschrieben, in denen die Kerngrenzschichten während der Reifungsteilung zerfallen und sich in der Zelle in „parallel order" anordnen.

Ungeklärt bleibt vorläufig die Frage der Entstehung des endoplasmatischen Reticulums einerseits allein aus der äußeren und andererseits aus beiden osmiophilen Schichten.

Wenn umgekehrt das endoplasmatische Reticulum Material für die Kerngrenzschichten liefern soll (SITTE 1958, SCHNEPF 1960), müßte es in Zellen mit Telophasenkernen besonders zahlreich vorkommen. Diese Ausbildung ist in der Literatur auch beschrieben worden (WHALEY u. a. 1960a), konnte jedoch bei *Cucumis sativus* nicht beobachtet werden.

Die Meinung, daß das endoplasmatische Reticulum zusammengefallene Vacuolen darstellt (HODGE u. a. 1956), kann nach den Beobachtungen an *Cucumis sativus*, wo es auch in meristematischen Zellen gefunden wurde, in denen noch keine Vacuolen ausgebildet sind, nicht bestätigt werden.

Ist der Zusammenhang zwischen Kerngrenzschichten und endoplasmatischem Reticulum auch deutlich, so braucht nicht unbedingt eins aus dem anderen zu entstehen. Es ist denkbar, daß Kerngrenzschichten und endoplasmatisches Reticulum zu besonderen, noch unbekannten Funktionen miteinander in Verbindung treten, die später wieder gelöst wird.

Die Strukturelemente aller übrigen Kernbestandteile sind als schraubig gewundene Fäden mit einem ± deutlichen Unterschied zwischen einem uranophilen Docht und schwächer kontrastierter Hüllsubstanz beschrieben. Sie konnten beobachtet werden nach Osmiumsäure- und Altmann-Fixation, sowie nach Alkohol- und Acetonentwässerung und Einbettung der Objekte in Methacrylat und Araldit.

Die bisherigen Größenangaben von sublichtmikroskopischen Nucleoluselementen in Pflanzenzellen liegen entsprechend den Messungen bei *Cucumis sativus* alle über 100 Å (SITTE 1958, BOPP-HASSENKAMP 1959, STRUGGER 1960). Die in diesen Fäden bei *Cucumis sativus* noch beobachteten Untereinheiten von 70—80 Å stimmen mit Meßergebnissen an tierischen Nucleolen überein. (BERNHARD u. a. 1955, vgl. HERTL 1957, HORSTMANN u. KNOOP 1957, YASAZUMI u. a. 1958). Die Anordnung der Nucleoluselemente zu durchschnittlich 0,2 $\mu$ breiten Nucleolonemata und der Pars amorpha, die nach ESTABLE u. SOTELO (1951 und 1954) und LETTRÉ (1954 und 1956) ständige Elemente des Nucleolus sein sollen, wurden in Interphasenkernen nach $OsO_4$-Fixation nicht beobachtet. Erst nach Altmann-Fixation kann das Vorkommen von zweierlei Substanz bestätigt werden, wie in früheren Arbeiten durch UV-Absorption und Interferenzmikroskopie (ZIRKLE 1931, DAVIES u. a. 1954) festgestellt wurde. — Die schwach kontrastierten Areale der Nucleolen stellen nach den bisherigen Beobachtungen Schnitte durch die geknäulten Nucleolonemata dar. Die Ausmaße dieser „Nucleolonemata" entsprechen zwar nicht den in der Literatur angegebenen Werten, doch können diese Unterschiede artbedingt sein oder auf andere, unten noch zu besprechende Bedingungen zurückzuführen sein.

Die Deutung der beschriebenen Gebilde als Nucleolonemata wird in Mitosekernen weiter bestätigt. In mehreren Teilungskernen entsprechen die innerhalb der Nucleolen und von ihnen ausgehenden breiten Bänder den elektronenmikroskopischen Abbildungen von Nucleolonemata (BERNHARD u. a. 1955, vgl. HERTL 1957, HORTMANN u. KNOOP 1957) in Größe und Aufbau. Da die in der Literatur beschriebenen Kerne mit Nucleolonemata teilweise in sehr aktivem Gewebe liegen, scheint die Ausbildung der Nucleolonemata zu einer Breite von 1500 Å mit reger Zelltätigkeit oder wie bei *Cucumis sativus* mit der Zellteilung in Zusammenhang zu stehen. Eine Bestätigung dieser Vermutung ist in der deutlichen Ausbildung von Nucleolonemata nach Zugabe hypotonischer Salzlösungen (DENUES u. MOTTRAM 1955, vgl. HERTL 1957) zu sehen. — Ähnliche Beobachtungen wurden schon früher an *Acetabularia* gemacht (HÄMMERLING 1931). In großen Kernen sind „wurstförmige" Nucleolen ausgebildet, die vorher homogen waren und experimentell wiederhergestellt werden können.

Da die Nucleolonemata mit den Chromozentren in Verbindung stehen, ist in Übereinstimmung mit den Befunden LETTRÉs möglich, daß unter „Abpressung" der stark kontrastierten Pars amorpha aus den Nucleolonemata die Chromosomen „kondensiert" werden.

Die Auflockerung der Nucleolen bis zur „Vacuolenbildung" ist in Übereinstimmung mit anderen Autoren (KLEINFELD u. HAAM 1959) durch eine gesteigerte Zell- und Kernaktivität bedingt, da sie in deutlichem Bezug zur Mitose stehen.

Aussagen über die Entstehung der Nucleolen sind nach den bisherigen elektronenmikroskopischen Bildern nicht möglich. Da chromosomale Substanz in den Nucleolen gefunden wurde, ist denkbar, daß die Nucleolussubstanz die SAT-Stelle des Chromosoms umlagert, wobei das Chromosom die Veränderung bis zum Chromozentrum durchmacht. Nach der Gestalt des SAT-Chromosoms liegt das Chromozentrum gerade oder gekrümmt im Nucleolus. Mit diesen Beobachtungen wird die Auffassung von Heitz (1930) bestätigt, wonach der Nucleolus am SAT-Chromosom kondensiert wird. Für eine Entstehung des Nucleolus in einem Chromozentrum, das anschließend platzt (Caspersson, s. Hertl 1957, Vogt ebd.) sind bei *Cucumis sativus* keine Anhaltspunkte gegeben.

Beobachtungen über die Entstehung des Nucleolus sind auch deshalb schwierig, weil die Chromosomensubstanz nach dem augenblicklichen Stand der Präparation nicht genau zu bestimmen ist. Weder ein eindeutiger Kontrast noch die Dichte der Strukturelemente lassen Hetero- und Euchromatin unterscheiden. Aussagen über Veränderungen der Chromosomen zu Anfang und Ende der Mitose sind deshalb auch nicht möglich.

Nach dem unterschiedlichen Kontrast der Chromozentren innerhalb eines Kernes ist auf zweierlei Chromozentren zu schließen. Das nach Altmann-Fixation stark kontrastierte Chromozentrum kann das „Nucleolus-associated chromatin" sein, das nach Caspersson (s. Hertl 1957) die basischen Eiweiße, deren Stapelplatz der Nucleolus sein soll, liefert. Die „Nucleolus-associated" Chromatinmengen sind nach den Untersuchungen von Caspersson zwar bedeutend größer, doch kann dieses auf unterschiedliche Objekte zurückzuführen sein. Ob das genannte Chromozentrum feulgenpositiv oder -negativ ist, läßt sich nicht entscheiden, da stets mehrere Chromozentren einem Nucleolus anliegen.

Die Chromozentren sind nach diesen Untersuchungen, abgesehen von ihrem Aufbau aus den Subchromonemata, starken Veränderungen unterworfen. Sie können daher nicht nur Chromosomenstücke sein, die im geschraubten Zustand in der Telophase erhalten bleiben.

Eine gewisse Übereinstimmung zwischen Chromozentren und Chromosomen besteht nach dem Chromozentrenquerschnitt, der einen Aufbau der Strukturelemente um einen hohlen Achsenfaden entsprechend der lichtmikroskopischen Vorstellung vom Bau des Chromosoms in seiner Transportform (ausführliche Literaturangaben s. Geitler 1938 und Straub 1938) zeigt.

Im sublichtmikroskopischen Bau der Chromosomen ist eine Matrix im lichtmikroskopischen Sinne nicht zu beobachten. Eine mögliche Veränderung durch die Fixation ist nach dem Gesamtbild nicht anzunehmen. Die Verbindung der Elemente aus der beschriebenen Randzone mit dem Kernraum spricht gegen die Umhüllung der Chromosomen mit einer Matrix.

## Zusammenfassung

An den Wurzelmeristemzellen von *Cucumis sativus* wurden Interphasen- und Mitosekerne nach $OsO_4$- oder Altmann-Fixation elektronenmikroskopisch untersucht.

1. Die Kerngrenzschichten (Kernmembran) sind 280—300 Å breit und bestehen, wie an anderen Objekten bereits beobachtet wurde, aus 2 osmiophilen Schichten von je 65—75 Å Breite und einem kontrastlosen Zwischenbereich. Die beiden osmiophilen Schichten sind wieder aus 2 Lamellen aufgebaut.

2. Die in Tangential- und Längsschnitten beobachteten Kernporen, deren Durchmesser einschließlich Annulus 700—1200 Å beträgt, konnten nicht als wirkliche Öffnungen der Kerngrenzschichten beobachtet werden.

3. Ausstülpungen der Kerngrenzschichten, die von einer oder beiden osmiophilen Schichten gebildet werden, reißen in ihrer weiteren Entwicklung von den Grenzschichten ab, und liegen $\pm$ parallel zur Kernoberfläche.

4. Die Strukturelemente der Nucleolen, Chromozentren und des Kernraumes sind schraubig gewundene Fäden, deren Breitenmessungen nach $OsO_4$- und Altmann-Fixation, sowie Alkohol- oder Acetonentwässerung in Methacrylat- und Araldit dünnschnitten dieselben Werte ergeben.

5. Sämtliche Nucleolen in Interphasenkernen zeigen nach Altmann-Fixation einen unregelmäßigen Aufbau aus verschieden kontrastierten Elementen, der in Teilungskernen auch nach $OsO_4$-Fixation sichtbar wird. Diese Beobachtungen werden in Zusammenhang gebracht mit den „Nucleolonemata" und der „Pars amorpha".

6. Ein unterschiedlicher Kontrast der Chromozentren nach Altmann- oder Osmiumfixation innerhalb eines Kernes läßt auf verschiedene Chromozentrentypen schließen.

7. Die Chromosomen bestehen, nach Längs- und Querschnitten zu urteilen, aus 2 verschiedenen Bereichen. Den Hauptanteil bilden — um einen zentralen, fast kontrastlosen Raum angeordnet — sehr dicht gelagerte, fädige Elemente mit auffallend einheitlicher Breite von 50 Å. Diesen Elementen schließt sich im Übergang zum Cytoplasma eine Zone an, deren Strukturelemente 100—120 Å breite, schraubig gewundene Fäden sind. Eine Matrix nach lichtmikroskopischen Vorstellungen ist nicht zu beobachten.


## Literatur


BARNES, B. G., and J. M. DAVIS: The structure of nuclear pores in mammalian tissues. J. Ultrastruct. Res. **3**, 131 (1959).

BOPP-HASSENKAMP, G.: Untersuchungen über die submikroskopische Fibrillenstruktur von Kern und Nukleolus. Z. Naturforsch. **14**b, 188 (1959).

CANEFORT, H.: Structure des filaments de chromatine du noyau de l'oosphère chez le *Pinus* Laricio Poir (var. austriaca). Étude en microscope électronique. C.R. Acad. Sci. (Paris) **249**, 1790 (1959).

Davies, H. G., M. H. F. Wilkins, J. Chayen and L. F. la Cour: The use of the interference microscope to determine dry mass in living cells and as a quantitative cytochemical method. Quart. J. micr. Sci. **95**, 271 (1954).

Estable, C., y J. R. Sotelo: Una nueva estruxture el nucleolonema. Inst. Invest. Cienc. Biol. **1**, 106 (1951).

— The behaviour of the nucleolonema during mitosis. Symp. Fine structure of cells, Leiden 1954, p. 170.

Geitler, L.: Chromosomenbau. Berlin 1938.

— Normale und pathologische Anatomie der Zelle. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. I, S. 123. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

Glauert, A. M., and E. M. Brieger: Ultra-thin sections of avian tubercle bacille in a new embedding medium. Proc. Conf. E. M. Stockholm 1956. Uppsala 1957. S. 111.

Grimstone, A. V.: Cytoplasmic membranes and their nuclear membrane in the Flagellate *Trichonympha*. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 369 (1959).

Hämmerling, J.: Entwicklung und Formbildungsvermögen von *Acetabularia mediterranea*. Biol. Zbl. **51**, 633 (1931).

Heitz, E.: Heterochromatin, Chromozentren, Chromomeren. Ber. dtsch. bot. Ges. **47**, 274 (1929).

— Lage, Form und Größe pflanzlicher Nukleolen. Planta (Berl.) **12**, 775 (1930).

— Chromosomenstruktur und Gene. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **70**, 402 (1935).

— Über die Struktur der Chromosomen und Chloroplasten. Nova Acta Leopold., N. F. **17**, 517 (1955).

— Die Chromosomenstruktur im Kern während der Kernteilung und der Entwicklung der Organismen. Conf. on Chromosomes Wageningen, 1956, S. 5.

Hertl, M.: Zum Nukleolus-Problem. Z. Zellforsch. **46**, 18 (1957).

Hodge, A. J., J. D. McLean and F. V. Mercer: A possible mechanism for the morphogenesis of lamellar systems in plant cells. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 597 (1956).

Horstmann, E.: Zur Elektronenmikroskopie des Nukleolus und Karyoplasmas. Verh. dtsch. Ges. Path. **1958**, 361.

—, u. A. Knoop: Zur Struktur des Nukleolus und des Kernes. Z. Zellforsch. **46**, 100 (1957).

Kleinfeld, R. G., and E. v. Haam: Effect of thioacetamide on rat liver regeneration. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 393 (1959).

La Fontaine, J. G.: A particulate component found in nucleoli of *Allium cepa* and *Vicia faba*. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 229 (1958a).

— Structure and mode of formation of the nucleolus in meristematic cells of *Vicia faba* and *Allium cepa*. J. biophys. biochem Cytol. **4**, 777 (1958b).

Lettré, R.: Observations on the behaviour of the nucleolus of cells in vitro. Symp. Fine structure of cells, Leiden 1954, p. 141.

— Weitere Untersuchungen zur Struktur und Funktion des Nukleolus. Verh. dtsch. Ges. Path. **1956**, 353.

Marinos, N. G.: The nuclear envelope of plant cells. J. Ultrastruct. Res. **3**, 328 (1960).

Mühlethaler, K.: Submikroskopische Morphologie. Fortschr. Bot. **21**, 46 (1959).

Nebel, B. R.: On the structure on mammalian chromosomes during spermatogenesis and after radiation with special reference to cores. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie Berlin 1958. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960. S. 227.

Porter, K. R.: Problems in the study of the nuclear fine structure. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie in Berlin 1958. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960. S. 186.

Ris, H.: Fine structure of the nucleolus during spermiogenesis. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie Berlin 1958. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960. S. 211.

Rossner, W.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Einfluß von Streptomycin auf *Sinapis alba* mit einem Beitrag zur elektronenmikrsokopischen Feinstruktur des Interphasenkernes. Diss. Math.-Nat. Fak. Univ. Münster 1959.

Schlote, F. W.: Zellforschung mit Elektronenmikroskop und Mikromanipulator. Leitz Mitt. für Wiss. u. Tech. 1959, S. 42.

Schnepf, E.: Zur Feinstruktur der Drüsen von *Drosophyllum lusitanicum*. Planta. (Berl.) **54**, 641 (1960).

Shinke, N.: An electron microscopy study of chromonemata in some higher plants. Nucleus **2**, 161 (1959).

Sitte, P.: Die Ultrastruktur von Wurzelmeristemzellen der Erbse (*Pisum sativum*). Protoplasma **49**, 447 (1958).

Stebbins, G. L.: Variation and evolution in plants. New York: Columbia University Press 1950.

Stich, H.: Bau und Funktion der Nukleolen. Experientia (Basel) **12**, 7 (1956).

Straub, J.: Die Spiralstruktur der Chromosomen. Z. Bot. **33**, 65, (1938).

Strugger, S.: Die Uranylazetat-Kontrastierung für die elektronenmikroskopische Untersuchung von Pflanzenzellen. Naturwissenschaften **43**, 357 (1956a).

— Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Bauelemente des Cytoplasmas. Naturwissenschaften **43**, 451 (1956b).

— Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Strukturelemente des Cytoplasmas. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 91 (1957a).

— Die sublichtmikroskopische Struktur des Cytoplasmas bei verschiedener Fixation. Naturwissenschaften **44**, 596 (1957b).

— Die sublichtmikroskopische Struktur des Cytoplasmas im latenten Lebenszustand. Naturwissenschaften **44**, 596 (1957c).

— Ergebnisse elektronenmikroskopischer Untersuchungen an der meristematischen Pflanzenzelle. Naturwiss. Rdsch. **13**, H. 1 u. 2 (1960).

Tschermak-Woess, E., u. G. Hasitschka: Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen. Chromosoma (Berl.) **5**, 574 (1953).

Vincent, W. S.: Structure and chemistry of nucleoli. Int. Rev. Cytol. **4**, 269 (1955).

Watson, M. L.: The nuclear envelope. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 257 (1955).

Whaley, W. G., H. H. Mollenhauer and J. H. Leech: The ultrastructure of the meristematic cell. Amer. J. Bot. **47**, 401 (1960a).

— — — Some observations on the nuclear envelope. J. biophys. biochem. Cytol. **8**, 233 (1960b).

Wohlfarth-Bottermann, K. E.: Cytologische Studien III. Die Eignung und Anwendung von Phosphorwolframsäure und Thalliumnitrat als Kontrastmittel zur Darstellung cytoplasmatischer Strukturen. Mikroskopie **12**, 74 (1957).

Yasazumi, G., T. Sawado, R. Sugihara, M. Kiriyama and M. Sugioka: Electron microscope researches on the ultrastructure of nuclei in animal tissues. Z. Zellforsch. **48**, 10 (1958).

Zirkl, C.: Nucleoli of the root tip and cambium of *Pinus strobus*. Cytologia (Tokyo) **2**, 85 (1931).

Dr. Elisabeth Peveling,
Botanisches Institut der Universität Münster (Westfalen), Schloßgarten 3

Planta 56, 555—574 (1961)

Aus der Kohlenstoffbiologischen Forschungsstation e.V.
und dem Max Planck-Institut für Ernährungsphysiologie in Dortmund

# ÜBER DIE VERÄNDERUNG DER CHEMISCHEN ZUSAMMENSETZUNG VON *SCENEDESMUS OBLIQUUS* BEI SYNCHRONER KULTUR IM LICHT-DUNKEL-WECHSEL

Von

HANS-MARTIN MÜLLER

Mit 10 Textabbildungen

*(Eingegangen am 18. Januar 1961)*

## Einleitung

Über die Abhängigkeit der chemischen Zusammensetzung von *Chlorella ellipsoidea* vom Entwicklungszustand der Zellen haben TAMIYA und sein Arbeitskreis in mehreren Arbeiten berichtet. Sie untersuchten unter anderem die Veränderungen des auf das Trockengewicht bezogenen Gesamt-N-Gehaltes und fanden fast durchweg nur geringe Schwankungen (NIHEI et al. 1954, IWAMURA et al. 1955, HASE et al. 1957). Lediglich in einer früheren Arbeit (TAMIYA et al. 1953) wurden größere Veränderungen festgestellt. Nach diesen Angaben haben die „active dark cells" mit 7,0—9,5% N einen deutlich höheren Gehalt als die „nascent dark cells" (5,5—7,0%) und die „light cells" (5,2—5,7%). Die Diskrepanz zwischen diesen und den späteren Befunden war der Anlaß, die Veränderungen des Stickstoffgehalts bei *Scenedesmus* erneut zu untersuchen. In der Tat erwiesen sie sich bei Kultur im Licht-Dunkel-Wechsel als ganz erheblich, und es erschien deshalb interessant, auch andere Zellkomponenten (Gesamt-P, unlöslicher N und P, Kohlenhydrate) auf ihre Schwankungen hin zu prüfen. Es war außerdem zu klären, ob der Synchronisationsgrad bei der angewandten Kulturmethodik zu einer Übertragung der Ergebnisse auf die Einzelzelle berechtigte.

## Methodik

*a) Kultur.* Untersucht wurde ein Stamm von *Scenedesmus obliquus* aus der Algensammlung Pringsheim, Göttingen.

Die Kultur erfolgte in Roux-Flaschen. Diese lagen in 2 Reihen auf Holzrahmen, die in einer Apparatur ähnlich der von ARNON et al. (1955) beschriebenen geschüttelt wurden. (Etwa eine Schwingung je Sekunde.) Die Belüftung erfolgte in der dort angegebenen Weise mit einem Gemisch von 5% $CO_2$ in Luft. Belichtet wurde von unten mit Leuchtstoffröhren (Osram-L HNW de Luxe 65 W) im Licht-Dunkel-Wechsel 14:10 Std. Die Lichtintensität in Höhe der äußeren Flaschen der Reihe betrug 7500—9000 Lux, in Höhe der inneren Flaschen 11000 Lux, über alle Flaschen gemittelt 10000 Lux. Um die Unterschiede in der Lichtintensität auszugleichen, wurde nach jeder Entnahme von Suspension der Ort der Flaschen

gewechselt. Die Nährlösung enthielt auf 1000 ml aqua dest. entweder 1,14 g $KNO_3$ oder 0,266 g $(NH_4)_2HPO_4$, außerdem in beiden Fällen 0,28 g $KH_2PO_4$, 0,18 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ und an Spurenelementen 2,86 mg $HBO_3$, 0,222 mg $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 0,079 mg $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$, 2,54 mg $MnSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 0,059 mg $Co(NO_3)_2 \cdot 6\,H_2O$, 0,016 mg $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4\,H_2O$, 4,3 mg $CaCl_2 \cdot 6\,H_2O$ (zum Teil nach ARNON 1938), 5,3 mg Fe-Citrat, 5,3 mg Citronensäure (RHODE 1948). Der Anfangs-$p_H$-Wert der Nährlösung mit $(NH_4)_2HPO_4$ wurde mit einigen Tropfen konz. NaOH auf 7,0 gebracht, in der Nährlösung mit $KNO_3$ wurde er auf 6,0 belassen. Jede Roux-Flasche (Fassungsvermögen 1 Liter) wurde mit 250 ml Nährlösung beschickt und 3mal je 30 min im strömenden Dampf sterilisiert. (Das $CaCl_2$ wurde erst nach dem Sterilisieren zugegeben.)

Die Temperatur im Raum betrug $25 \pm 1^0$ C. Während der Lichtperiode lag sie in Höhe der Flaschen etwa 1,5° höher, da es nicht gelang, die von den Leuchtstoffröhren entwickelte Wärme ganz zu entfernen.

Die zur Beimpfung benützte Kultur wurde von Schrägagar ausgehend unter den angegebenen Bedingungen gezogen. Nach Erreichen der notwendigen Zelldichte (nach etwa 3 Tagen) wurde steril zentrifugiert, einmal mit aqua dest. gewaschen und in aqua dest. wieder aufgenommen. Beimpft wurde auf eine Ausgangskonzentration von $1—2 \cdot 10^6$ Zellen/ml.

Das $p_H$ in den Kulturen mit $(NH_4)_2HPO_4$ wurde während der Vor- und Hauptkultur durch Zugabe von 2,5%igem $NH_3$ im Bereich zwischen 5,8 und 7,0 gehalten. Die Suspension wurde während der Vor- und Hauptkultur nicht verdünnt.

*b) Aufarbeitung.* Zu den im experimentellen Teil genannten Zeiten wurde aus jeder Flasche die gleiche Menge Suspension entnommen (je nach Bedarf 9—25 ml, vgl. Abb. 1) und die Suspension aus 8, z. T. die aus 16 Flaschen vereinigt. Nach der $p_H$-Messung (Glaselektrode) wurde zentrifugiert und das Sediment 2mal auf der Zentrifuge mit aqua dest. gewaschen. Das Trockengewicht wurde im Zentrifugenglas durch Konstanttrocknen bei 105° C, der Gesamt-N in den gewaschenen Algen nach der Mikrokjeldahl-Methode bestimmt. Die Bestimmung des Gesamt-P erfolgte nach einer in der Arbeitsanleitung „Klinisch-chemische Untersuchungsmethoden mit dem Photometer Eppendorf" angegebenen Methode: Die gewaschenen Algen wurden mit konz. $H_2SO_4$, zum Schluß unter Zusatz einiger Tropfen rauch. $HNO_3$ verascht. Ein aliquoter Teil wurde mit 2 n NaOH neutralisiert und 2 ml Ammoniummolybdatlösung und 1 ml Metolreduktionslösung zugesetzt. Die Bildung des Molybdänblau wurde nach genau 10 min durch Zusatz von 4 ml Na-Acetatlösung abgestoppt. Danach wurde auf 20 ml aufgefüllt und die Extinktion bei 578 m$\mu$ gemessen.

Die Extraktion des löslichen N erfolgte in Anlehnung an das Verfahren von SYRETT (1953): Die gewaschenen Algen wurden in 10 ml 0,2%iger Trichloressigsäure aufgenommen und unter Schütteln 1,5 min im kochenden Wasserbad und anschließend 10 min bei 80° gehalten. Nach dem Abzentrifugieren wurde der Niederschlag mit 10 ml 0,1% TCE aufgenommen, 10 min bei 80° geschüttelt und zentrifugiert. Diese Extraktion wurde noch einmal wiederholt und dann einmal mit aqua dest. gewaschen. In den vereinigten Extrakten wurde der Gesamt-N bestimmt und der unlösliche N aus der Differenz Gesamt-N — lösl. N berechnet. Da dieser außer dem Protein-N noch geringe Mengen von Stickstoff aus anderen Verbindungen enthält (z. B. den des Chlorophylls), kann man ihn nur als Rohprotein-N bezeichnen.

Die Extraktion des löslichen P erfolgte nach NIHEI (1955): Die gewaschenen Algen wurden mit 5 ml 5% TCE aufgenommen, 15 min bei Zimmertemperatur gehalten und nach dem Abzentrifugieren einmal mit aqua dest. gewaschen. In den vereinigten Zentrifugaten wurde der Gesamt-P bestimmt und der unlösliche P aus der Differenz Gesamt-P — lösl. P berechnet.

Zur Bestimmung der Gesamtkohlenhydrate wurde nach BROWN (1948) 4 Std mit 1n HCl im kochenden Wasserbad hydrolysiert und der Reduktionswert im neutralisierten Hydrolysat nach HAGEDORN-JENSEN bestimmt. Die wahre Glucose im Hydrolysat wurde enzymatisch bestimmt (Reagenzien und Arbeitsanleitung von Fa. C F. Boehringer und Söhne GmbH Mannheim). Die Gesamtkohlenhydrate umfassen nicht die Cellulose, da diese unter den angegebenen Hydrolysebedingungen höchstens bis zu 1% angegriffen wird. Da die genaue Zusammensetzung der Gesamtkohlenhydrate nicht bekannt ist, wurde bei der Berechnung nicht mit einem Faktor multipliziert, sondern unmittelbar der Reduktionswert des Hydrolysates eingesetzt.

*c) Fehlerbetrachtung.* Der mittlere Fehler des Mittelwertes wurde nach der Formel $\sqrt{\frac{\Sigma \triangle^2}{n\,(n-1)}}$ berechnet. Die Prüfung auf Signifikanz erfolgte mit Hilfe des *t*-Testes. Zur Frage der Reproduzierbarkeit und statistischen Sicherung s. unter I c.

## Ergebnisse

### *I. Versuche mit $(NH_4)_2HPO_4$ als Stickstoffquelle*

*a) Zellteilung und Synchronisationsgrad.* Der Licht-Dunkel-Wechsel (14:10 Std) begann stets 1 Std nach der Beimpfung (21 h). In der ersten Dunkel-Licht-Periode erhöhte sich die Zellzahl in den auf 1,4—1,8 · $10^6$ Zellen/ml beimpften Kulturen nicht oder nur sehr wenig. In der Dunkelperiode II (s. Abb. 1) teilte sich jede Zelle im Mittel in 8,3 Tochterzellen. Die Zellzahl stieg dadurch im Mittel aller Versuche auf 17 · $10^6$ Z/ml und blieb während des größten Teils der folgenden Lichtperiode auf dieser Höhe. Die nächste Zellteilung begann kurz vor Beginn der Dunkelperiode III. Die Zahl der Tochterzellen betrug jetzt im Mittel 4,3 und die Zellzahl stieg im Mittel aller Versuche auf 70 · $10^6$ Z/ml, in dem in Abb. 1 dargestellten Beispiel auf 66 · $10^6$ Z/ml. In der jetzt noch folgenden Lichtperiode III und Dunkelperiode IV erfolgten keine Zellteilungen mehr, wie aus Abb. 8 zu entnehmen ist. Der in Abb. 1 dargestellte Versuch zeigt, daß die Zellteilungen schubartig vor sich gingen, wie es von synchronisierten Kulturen zu erwarten ist (s. z. B. HASE et al. 1957, LORENZEN und RUPPEL 1960).

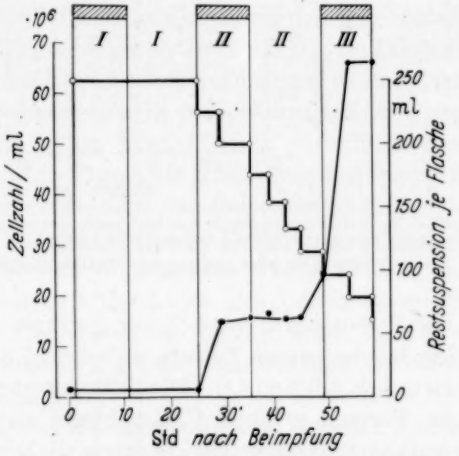



Abb. 1. Veränderung der Zellzahl in einer nicht verdünnten Kultur von *Scenedesmus obliquus* bei laufender Entnahme von Suspension. ●—● Zellzahl je ml; ○—○ Restsuspension je Flasche

Daß in der Dunkelperiode II 8 Tochterzellen, in der Dunkelperiode III aber nur 4 Tochterzellen entstanden, hängt nach den Erfahrungen anderer

Autoren damit zusammen, daß die Zellen bei höherer Lichtintensität größer werden und mehr Autosporen bilden als bei niederer Lichtintensität (vgl. z. B. SOROKIN 1958, MORIMURA 1959). In unserem Falle war der Lichtgenuß der Einzelzellen bei der niederen Zellkonzentration in der Lichtperiode I zweifellos höher als bei der rund 8mal höheren Zellkonzentration in der Lichtperiode II, und die Zellen waren in der Tat vor Beginn der ersten Teilung erheblich größer als vor Beginn der zweiten Teilung (Abb. 2). Die Zahl der Tochterzellen bei beiden Teilungen war

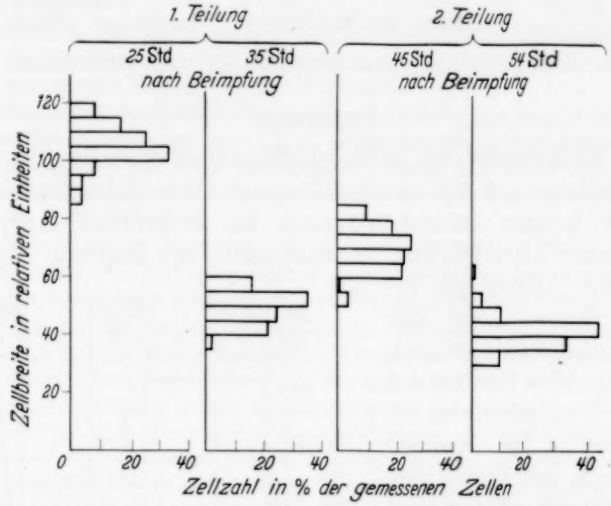



Abb. 2. Größenverteilung vor und nach den in Abb. 1 dargestellten Zellteilungen. Jeweils 5 relative Einheiten sind zu einer Größenklasse zusammengefaßt und die darin liegenden Zellen in Prozent aller gemessenen Zellen ausgedrückt. (100 relative Einheiten = 7,7 $\mu$.)

von Versuch zu Versuch nur geringen Schwankungen unterworfen. Sie lag bei der ersten Teilung zwischen 7,5 und 9,6, bei der zweiten Teilung zwischen 4,0 und 4,6. Die Zellkonzentration dagegen zeigte von Versuch zu Versuch größere Unterschiede, da die geringen Differenzen in der Anfangszellkonzentration durch die beiden Teilungen auf das 8- bzw. auf das 32fache vergrößert wurden. So lag die Zellkonzentration in der Lichtperiode II zwischen 12,3 und $18{,}9 \cdot 10^6$ Z/ml, in der Lichtperiode III zwischen 52,6 und $86{,}9 \cdot 10^6$ Z/ml. Es zeigte sich jedoch, daß die Versuchsergebnisse hinsichtlich der Veränderung der chemischen Zusammensetzung dadurch im Prinzip nicht beeinflußt wurden.

Über den Prozentsatz der Zellen, die sich geteilt haben, geben die Größenverteilungskurven in Abb. 2 Auskunft.

Wegen der elliptischen Form der Zellen wurde nicht das Volumen, sondern nur ein Durchmesser bestimmt, und zwar der Querdurchmesser, d. h. die kleinere Achse der Ellipse. Die Zellen wurden zu diesem Zweck photographiert und auf dem vergrößerten Positiv ausgemessen.

Bei der ersten Teilung (Dunkelperiode II) teilten sich in dem angeführten Beispiel alle Zellen — die Kurven vor und nach der Teilung (25 bzw. 35 Std nach Beimpfung) überschneiden sich nicht. In der Dunkelperiode III teilten sich mindestens 96% der Zellen, da unmittelbar nach dem Teilungsschub (54 Std nach Beimpfung) nur 4% in den Größenbereich vor der Teilung (45 Std nach Beimpfung) fielen. In einem anderen Versuch teilten sich bei der ersten Teilung 97%, bei der zweiten Teilung 100% der Zellen. Man kann also mit Sicherheit sagen, daß die Analysen zu Beginn der Lichtperioden II und III Aussagen über die chemische Zusammensetzung junger Zellen machen, und die gegen Ende zumindest der Lichtperioden I und II festgestellte Zusammensetzung für ältere, vor der Teilung stehende Zellen gilt.

Die Teilung aller oder fast aller Zellen in der Dunkelperiode II entspricht den Erfahrungen an *Chlorella*, wonach sich in Kulturen mit geringer Zellkonzentration ($1{,}5 \cdot 10^6$ Z/ml) stets alle Zellen teilen (vgl. z.B. Lorenzen 1957). Daß sich in unserem Fall auch bei der höheren Zellkonzentration ($17 \cdot 10^6$ Z/ml) praktisch alle Zellen geteilt haben (Dunkelperiode III), dürfte mit der angewandten Kulturmethodik zusammenhängen. In den Roux-Flaschen ist das Verhältnis der belichteten Fläche zur Schichthöhe vermutlich günstiger als in den z.B. von Lorenzen benützten Kulturröhren. Dieses Verhältnis wird dadurch noch weiter verbessert, daß durch die Schüttelbewegung die Suspension auf die Seite getrieben wird und so in der Mitte der Roux-Flasche periodisch eine Zone geringerer Schichthöhe entsteht. Durch die Entnahme von Suspension während des Versuches wurde außerdem die Schichthöhe etappenweise erniedrigt und so der durch Zellwachstum und Zellteilung bedingten Verminderung des Lichtgenusses der Einzelzellen entgegenwirkt, die nach den Erfahrungen von Pirson u. Mitarb. eine desynchronisierende Wirkung auf die Zellen ausübt. Die durch die mechanische Agitation bewirkte gute Durchmischung dürfte sich auf die gleichmäßige Entwicklung ebenfalls günstig ausgewirkt haben.

*b) Die Veränderung der chemischen Zusammensetzung.* In Abb. 3 sind die Ergebnisse des Versuches dargestellt, der auch den Abb. 1 und 2 zugrundeliegt, und den Zeitraum vom Beginn der Dunkelperiode II bis zum Ende der Dunkelperiode III umfaßt. Man erkennt, daß der auf das Trockengewicht bezogene Gehalt an Gesamt-N und Gesamt-P in beiden Dunkelperioden ansteigt und in der dazwischenliegenden Lichtperiode insgesamt abfällt. Der relative Stickstoffgehalt setzt dabei im ersten Intervall der Lichtperiode seinen Anstieg noch weiter fort und fällt erst dann bis zum Dunkelbeginn ab, während der relative Phosphorgehalt schon im ersten Intervall absinkt und im Gegensatz zum relativen Stickstoffgehalt im letzten Intervall einen geringen Anstieg zeigt.

Wie aus Abb. 3 weiterhin hervorgeht, ist der Anstieg in den beiden Dunkelperioden hauptsächlich durch die Zunahme des absoluten Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehaltes, zu einem kleineren Teil durch eine geringfügige Abnahme des Trockengewichts bedingt. In der Lichtperiode nehmen sowohl das Trockengewicht wie der absolute Stickstoff- und Phosphorgehalt durchgehend zu. Die Veränderungen im relativen Stickstoff- und Phosphorgehalt sind hier dadurch bedingt, daß die Zuwachsrate $\left(k = \frac{\Delta \log \times}{\Delta t}\right)$ des Stickstoffs im ersten Intervall über der des Trockengewichts, dann darunter liegt, während die Zuwachsrate des Phosphors erst im letzten Intervall der des Trockengewichts überlegen ist.

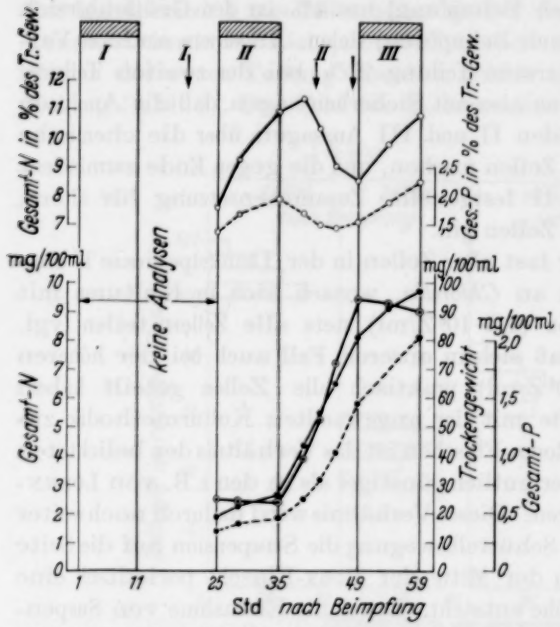



Abb. 3. Die Veränderung des Trockengewichts und des absoluten und relativen Gehalts der Algensubstanz an Gesamt-N und Gesamt-P im Licht-Dunkel-Wechsel. (Zur Veränderung der Zellzahl s. Abb. 1.)

○——○ Gesamt-N
○- - - -○ Gesamt-P
} in Prozent des Trockengewichts

⊙——⊙ Trockengewicht
●——● Gesamt-N
●- - - -● Gesamt-P
} des Sediments von 100 ml Suspension

↓ : Zugabe von 2,5 %igem $NH_3$ bis zum Erreichen von pH 7

Es ist denkbar, daß sich bei weiterer Unterteilung der Intervalle noch geringfügige Änderungen im Kurvenverlauf ergeben, z. B. daß auch der relative Gesamt-N-Gehalt schon vor Beginn der Dunkelperiode wieder anzusteigen beginnt, doch war diese Unterteilung aus zeitlichen Gründen nicht möglich.

Zur Abnahme des Trockengewichts in der Dunkelperiode ist zu bemerken, daß sie zwar nur gering war, aber stets reproduziert werden konnte. In der Dunkelperiode II betrug sie in 3 Versuchen im Mittel $1{,}46 \pm 0{,}33$ mg/100 ml, in der Dunkelperiode III in 6 Versuchen im Mittel $5{,}40 \pm 0{,}56$ mg/100 ml.

Es lag nun die Frage nahe, ob sich die geschilderten Veränderungen im Prinzip auch für den in Trichloressigsäure unlöslichen Anteil des Gesamt-N und Gesamt-P nachweisen lassen. Es interessierte dabei insbesondere, ob der Anstieg in der Dunkelperiode nur auf einer Anhäufung von anorganischem N und P beruht, oder ob auch im Dunkeln eine

Synthese organischen N- und P-haltigen Materials abläuft, wie dies für die Proteinsynthese von LORENZEN und RUPPEL (1960) an *Chlorella pyrenoidosa* gezeigt wurde. Es war weiterhin der Anteil der Kohlenhydrate an den geschilderten Veränderungen zu klären, da nach den Angaben derselben Autoren zu erwarten war, daß ihre Synthese in den älteren Zellen gefördert ist. In Abb. 4 und Abb. 5 sind die auf das Trockengewicht bezogenen Veränderungen des Gesamt-N und Gesamt-P, ihres in Trichloressigsäure löslichen und unlöslichen Anteils sowie die Veränderungen des relativen Gesamtkohlenhydratgehalts in der Licht-

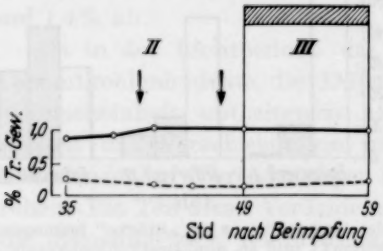



Abb. 4

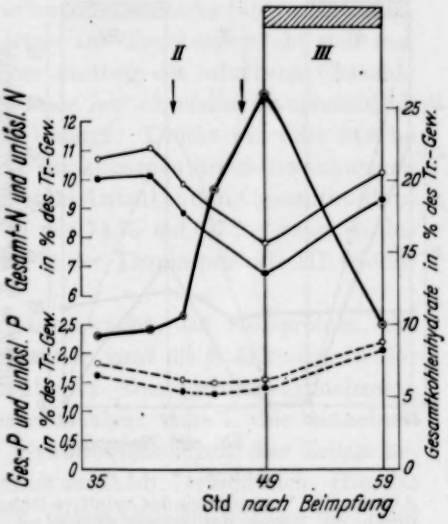



Abb. 5

Abb. 4. Die Veränderung des relativen Gehalts der Algensubstanz an löslichem N und P im Licht-Dunkel-Wechsel

—o———o— Löslicher N
– – o – – – – o – – Löslicher P
} in Prozent des Trockengewichts
↓ : Zugabe von 2,5 %igem $NH_3$ bis zum Erreichen von $p_H$ 7

Abb. 5. Die Veränderung des relativen Gehalts der Algensubstanz an Gesamt-N und Gesamt-P, an unlöslichem N und P sowie an Gesamtkohlenhydraten im Licht-Dunkel-Wechsel

—o———o— Gesamt-N
– – o – – – – o – – Gesamt-P
—●———●— Unlöslicher N
– – ●– – – – ●– – Unlöslicher P
} in Prozent des Trockengewichts
—⊙———⊙— Gesamtkohlenhydrate in Prozent des Trockengewichts
↓ : Zugabe von 2,5 %igem $NH_3$ bis zum Erreichen von $p_H$ 7

periode II und Dunkelperiode III dargestellt. Während dieser Zeit läuft ein voller Entwicklungscyclus ab. Er geht aus von den in der Dunkelperiode II entstandenen jungen Zellen und führt über das Stadium der reifen und völlig zur Teilung induzierten Zellen (das etwa im letzten Drittel der Lichtperiode II zu suchen sein wird) bis zu den jungen Zellen am Ende der Dunkelperiode III.

Wie Abb. 4 zeigt, ist der in TCE lösliche N und P bezogen auf das Trockengewicht nur geringen Schwankungen unterworfen und nimmt vor allem in der Dunkelperiode nicht bzw. nur wenig zu. Der Anstieg des

relativen Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehaltes kann hier also keineswegs durch die Anhäufung von anorganischem N und P erklärt werden. Er beruht vielmehr fast ausschließlich auf der Zunahme des relativen (und absoluten) Gehalts an unlöslichem N und P, d.h. auf der Synthese von Rohprotein und von P-haltiger organischer Substanz (Abb. 5). Auch in der Lichtperiode sind die Veränderungen des relativen Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehalts im wesentlichen durch die Veränderungen des relativen Gehalts an unlöslichem N und P bedingt (Abb. 5).

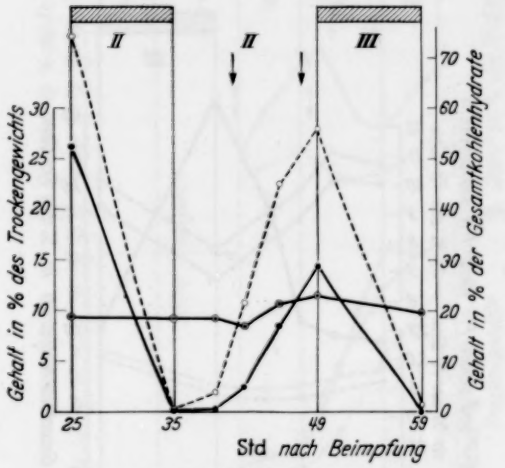



Abb. 6

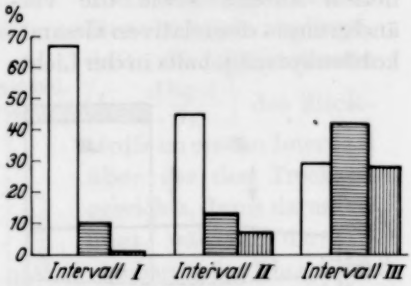



Abb. 7

Abb. 6. Die Veränderung des relativen Gehalts der Algensubstanz an „Stärke" (gemessen durch die Menge der wahren Glucose im Hydrolysat) und an den Restkohlenhydraten (Gesamtkohlenhydrate — „Stärke" = Differenzfraktion) sowie des prozentualen Anteils der „Stärke" an den Gesamtkohlenhydraten im Licht-Dunkel-Wechsel.

—●———●— „Stärke"
—⊙———⊙— Differenzfraktion } in Prozent des Trockengewichts
– – o – – – – o – – „Stärke" in Prozent der Gesamtkohlenhydrate.

↓ : Zugabe von 2,5 %igem $NH_3$ bis zum Erreichen von $p_H$ 7

Abb. 7. Zunahme des Rohproteins (unlöslicher N × 6,25), der Gesamtkohlenhydrate und der „Stärke" je Intervall in Prozent der Zunahme des Trockengewichts in dem betreffenden Intervall

Intervall I: 1.—4. Std
Intervall II: 4.—7. Std } der Lichtperiode II
Intervall III: 7.—14. Std

Rohprotein □; Gesamtkohlenhydrate ▤; „Stärke" ▥

Auch der auf das Trockengewicht bezogene Gehalt an Gesamtkohlenhydraten ist beim Durchlaufen des Entwicklungscyclus starken Schwankungen unterworfen (Abb. 5). Er nimmt in der Lichtperiode zunächst nur schwach, dann aber sehr stark zu, um in der Dunkelperiode wieder auf den Ausgangswert abzusinken.

Die Bestimmung der wahren Glucose im Hydrolysat machte es nun möglich, dieses Bild noch zu ergänzen. Da nach BROWN (1948) 77—86% der Kohlenhydrate von *Scenedesmus obliquus* aus wasserunlöslichen Polysacchariden bestehen und der lösliche Rest nur etwa 60% Aldosen enthält, muß die Glucosefraktion im Hydrolysat in der Hauptsache

aus der Stärke stammen. Sie wird deshalb summarisch, wenn auch nicht ganz genau als Stärke bezeichnet, der übrige Teil, der z.B. die Pentosen der Nucleinsäuren enthält, als Differenzfraktion. Die Differenzfraktion beteiligt sich nun an den Veränderungen des relativen Gesamtkohlenhydratgehaltes nur wenig. Diese sind vielmehr hauptsächlich durch die Schwankungen des Stärkegehaltes bedingt (Abb. 6). In den Dunkelperioden II und III verschwand die Stärke fast vollständig, während der Anteil der Differenzfraktion am Trockengewicht sich nur wenig bzw. gar nicht veränderte. Der Anstieg des relativen Gesamtkohlenhydratgehaltes in der Lichtperiode ist ebenfalls hauptsächlich durch den Anstieg des Stärkegehaltes bedingt. Drückt man die Stärke in Prozenten der Gesamtkohlenhydrate aus, kommen ihre Schwankungen noch deutlicher zum Vorschein (Abb. 6): Ihr Anteil an den Gesamtkohlenhydraten fällt in der Dunkelperiode II von 74% auf 0,7%, steigt in der Lichtperiode II auf 56% an und sinkt in der Dunkelperiode III wieder auf 1,4% ab.

Da in der Lichtperiode das Trockengewicht, das Rohprotein, die Gesamtkohlenhydrate, die Differenzfraktion und die Stärke der in der Volumeneinheit enthaltenen Algensubstanz durchgehend zunehmen, müssen die Verschiebungen im prozentualen Anteil der einzelnen Fraktionen auf Veränderungen der Syntheseleistungen der Zellen beruhen. Ein Teil dieser Veränderungen ist aus Abb. 7 ersichtlich. Hier ist die Zunahme des Rohproteins, der Gesamtkohlenhydrate und der Stärke der in 100 ml enthaltenen Algensubstanz in 3 aufeinanderfolgenden Intervallen der Lichtperiode II in Prozent der Zunahme des Trockengewichts in den betreffenden Intervallen dargestellt. Man erkennt, daß in den ersten 4 Std der Lichtperiode II die Zunahme des Trockengewichts zum überwiegenden Teil (67%) durch die Zunahme des Rohproteins bestritten wird und nur zu einem geringen Teil (10%) durch die Zunahme der Gesamtkohlenhydrate, an der die Stärkesynthese noch kaum beteiligt ist. Im nächsten Intervall (4.—7. Std der Lichtperiode II) beträgt die Rohproteinzunahme noch 45% der des Trockengewichts. Sie übertrifft aber immer noch die Zunahme der Gesamtkohlenhydrate (13%), an der jetzt die Stärkesynthese etwa zur Hälfte beteiligt ist. Im letzten Intervall (7.—14. Std der Lichtperiode II) hat sich das Bild jedoch eindeutig zugunsten der Kohlenhydratsynthese verschoben. Die Trockengewichtszunahme wird hier nur noch zu 29% von der Rohproteinzunahme und zu 42% von der Zunahme der Gesamtkohlenhydrate bestritten. Auch die Stärkesynthese ist hier von beachtlicher Intensität, sie liefert 28% der Trockengewichtszunahme.

Mit anderen Worten: In der ersten Hälfte der Lichtperiode überwiegt die Rohproteinsynthese über die Kohlenhydratsynthese, in der zweiten Hälfte, also in den älteren Zellen, herrscht die umgekehrte

Beziehung. Charakteristisch für diese Zellen ist dabei insbesondere die Stärkesynthese.

In der Dunkelperiode baut die Zelle ihren Stärkevorrat wieder ab und verwendet ihn zum Aufbau von Rohprotein und von P-haltiger organischer Substanz. Nach Ergebnissen von MEFFERT (1960) ist auch an eine Beteiligung der $CO_2$-Fixierung an den synthetischen Prozessen in der Dunkelperiode zu denken.

Die Ergebnisse hinsichtlich der Synthese von Rohprotein und Gesamtkohlenhydrat stimmen gut mit den von LORENZEN und RUPPEL (1960) an *Chlorella pyrenoidosa* gemachten Befunden überein. Sie stellten fest, daß in einem ersten Entwicklungsabschnitt der Zelle, etwa im ersten Drittel der Lichtperiode, die Proteinsynthese über die Kohlenhydratsynthese überwiegt, im übrigen Teil der Lichtperiode die Kohlenhydratsynthese über die Proteinsynthese. Im Dunkeln lief auch bei ihren Versuchen die Proteinsynthese weiter, während die Kohlenhydrate um etwa 50% abnahmen. Diese Abnahme führen sie auf den Proteinaufbau und andere Synthesereaktionen und auf die (nur geringe) endogene Atmung zurück. Es liegt nahe, anzunehmen, daß auch bei *Chlorella pyrenoidosa* im Dunkeln hauptsächlich Stärke abgebaut und daß neben Protein auch P-haltige organische Substanz aufgebaut wird.

Nach PIRSON und KOWALLIK (1960) können diese Ergebnisse — und damit auch die hier für *Scenedesmus obliquus* mitgeteilten Befunde — nicht verallgemeinert werden, da die Lichtqualität einen starken Einfluß darauf hat, welche der Hauptsyntheserichtungen bevorzugt wird. Das Überwiegen der Proteinsynthese über die Kohlenhydratsynthese in den jungen Zellen ist nach diesen Autoren zwar im Blaulicht, aber nicht im Rotlicht festzustellen, und im weißen Mischlicht dürften demnach die Ergebnisse von der jeweiligen spektralen Zusammensetzung des verwendeten Lichts abhängen. Immerhin scheint das Überwiegen der Kohlenhydratsynthese in den älteren Zellen und der Umbau der Kohlenhydrate im Dunkeln ein Prinzip von allgemeinerer Bedeutung zu sein, da es beobachtet werden kann, unabhängig davon, ob in der Lichtperiode Blau-, Rot- oder Weißlicht gegeben wird.

*c) Der Einfluß der Zellkonzentration auf den relativen Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehalt.* In Abb. 8 sind 4 Versuche zusammengefaßt, in denen die Veränderungen des relativen Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehaltes vom Beginn der Dunkelperiode II bis zum Ende der Dunkelperiode IV untersucht wurden. Wie schon erwähnt, stieg die Zellzahl bis zum Beginn der Lichtperiode III im Mittel aller Versuche auf $70 \cdot 10^6$ Z/ml an, in den in Abb. 8 dargestellten Versuchen auf $72 \cdot 10^6$ Z/ml. Der geringe Anstieg der Zellzahl am Ende der Lichtperiode III ist nicht signifikant, d.h. die Zellzahl blieb bis zum Ende der Dunkelperiode IV auf der einmal erreichten Höhe.

Die Veränderungen des Trockengewichtes und des absoluten Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehaltes waren nun in der Lichtperiode III und in der Dunkelperiode IV im Prinzip dieselben wie in der Lichtperiode II bzw. in den Dunkelperioden II und III: Der absolute Gehalt an Gesamt-N und Gesamt-P nahm sowohl im Licht wie im Dunkeln zu, das Trockengewicht hingegen nahm nur im Licht zu und im Dunkeln um einen geringen Betrag ab. Wie Abb. 8 zeigt, nahm trotz der sehr hohen Zellkonzentration der relative Gehalt an Gesamt-N auch in der Lichtperiode III und der Dunkelperiode IV im Prinzip denselben Verlauf wie in der vorhergehenden Versuchszeit. Man sieht also, daß sich für die Untersuchung der Veränderungen des Gesamt-N und wahrscheinlich auch des Protein-N und der Kohlenhydrate unter den angegebenen Bedingungen auch Synchronkulturen mit sehr hoher Zellkonzentration eignen, was für Fragestellungen mit sehr hohem Substanzbedarf vielleicht nützlich sein könnte. Es ist außerdem festzustellen, daß die Zunahme des relativen Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehaltes im Dunkeln keineswegs von einer Zellteilung begleitet sein muß (s. Dunkelperiode IV). Und zum Dritten kann man aus diesen Versuchen die Lehre ziehen, daß bei der Verallgemeinerung der bei einer bestimmten Zellkonzentration gewonnenen Ergebnisse durchaus Vorsicht geboten sein kann, wie etwa hier im Falle des relativen Gesamt-P-Gehalts, fällt doch dieser bei der geringeren Zellkonzentration in Lichtperiode II stärker ab und liegt über die ganze Lichtperiode gemittelt tiefer als bei der höheren Zellkonzentration in Lichtperiode III. Worauf diese Unterschiede beruhen, muß allerdings offen bleiben, da einem Erklärungsversuch zumindest die Bestimmung der Veränderungen der einzelnen P-Fraktionen vorhergehen müßte.

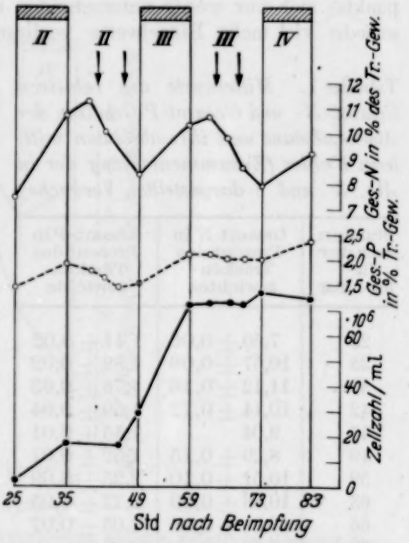



Abb. 8. Der Einfluß der Zellkonzentration auf den relativen Gehalt der Algensubstanz an Gesamt-N und Gesamt-P

o———o Gesamt-N } in Prozent des
o- - - - -o Gesamt-P } Trockengewichts
●———● Zellzahl je ml

↓: Zugabe von 2,5 %igem $NH_3$ bis zum Erreichen von $p_H$ 7

Um einen Eindruck von der Streuung der Einzelwerte zu geben, wurden die in Abb. 8 dargestellten Versuche mit denen zusammengefaßt, die nur bis zum Ende der Dunkelperiode III liefen, und die Mittelwerte mit den absoluten mittleren

Fehlern in Tabelle 1 angegeben. Die letzteren liegen beim relativen Gesamt-N-Gehalt zwischen 0,6 und 2,7% des Mittelwertes, beim relativen Gesamt-P-Gehalt zwischen 0,7 und 5,9%. Die einander benachbarten Kurvenpunkte sind nicht durchweg signifikant voneinander verschieden. So ist z. B. der Anstieg des relativen Gesamt-N-Gehaltes im ersten Intervall der Lichtperiode III und der Abfall des relativen Gesamt-P-Gehaltes in der ganzen Lichtperiode II nicht gesichert — im Gegensatz etwa zum Abfall des relativen Gesamt-P-Gehaltes in den ersten 3 Intervallen der Lichtperiode II. Das rührt daher, daß die entsprechenden Kurvenpunkte sich nur wenig unterscheiden und deshalb für eine Sicherung der Unterschiede viel mehr Einzelwerte vorliegen müßten, als in unserem Fall vorhanden sind. Es wird außerdem dadurch eine beträchtliche Streuung hineingetragen, daß die aus den einzelnen Versuchen stammenden Kurven entweder auf der Ordinate gegeneinander verschoben sind oder sich überschneiden, ohne daß eine Erklärung für diese Unterschiede gegeben werden könnte. Wichtiger als die Nichtsignifikanz des Unterschiedes einiger Kurvenpunkte scheint jedoch dem Verfasser zu sein, daß der in Abb. 8 angegebene Kurvenverlauf im Prinzip in allen Versuchen reproduziert werden konnte, also auch der Anstieg des relativen Gesamt-N-Gehaltes in der Lichtperiode III. Diese gute Reproduzierbarkeit der zeitlichen Veränderungen des relativen Gesamt-N- und des Gesamt-P-Gehaltes ist auch eine Stütze für die Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich der Veränderungen des unlöslichen N und P sowie der Kohlenhydrate, die wegen des Abbruchs der Arbeit jeweils nur auf 2 Versuchen beruhen.

Tabelle 1. *Mittelwerte des relativen Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehaltes der Algensubstanz und ihre absoluten mittleren Fehler (Zusammenfassung der in Abb. 3 und 8 dargestellten Versuche)*

| Stunden nach der Beimpfung | Gesamt-N in Prozent des Trockengewichtes | Gesamt-P in Prozent des Trockengewichts |
|---|---|---|
| 25 | 7,50 ± 0,06 | 1,41 ± 0,02 |
| 35 | 10,57 ± 0,09 | 1,89 ± 0,02 |
| 39 | 11,12 ± 0,16 | 1,76 ± 0,03 |
| 42 | 10,14 ± 0,12 | 1,59 ± 0,04 |
| 45 | 9,04 | 1,45 ± 0,01 |
| 49 | 8,29 ± 0,15 | 1,52 ± 0,01 |
| 59 | 10,51 ± 0,10 | 2,25 ± 0,09 |
| 63 | 10,66 ± 0,09 | 2,12 ± 0,05 |
| 66 | 9,84 ± 0,06 | 2,05 ± 0,07 |
| 69 | 8,69 | 2,07 |
| 73 | 7,92 ± 0,21 | 2,03 ± 0,07 |
| 83 | 9,20 ± 0,06 | 2,35 ± 0,13 |

*d) Der Einfluß des Nährstoffangebotes auf den relativen Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehalt.* Eine Abnahme des relativen Gesamt-N- und Protein-N-Gehaltes unter Stickstoffmangelbedingungen stellte unter anderem BONGERS (1956) an *Scenedesmus* spec. fest. Man könnte deshalb in unserem Falle einwenden, das Absinken des relativen Gesamt-N-Gehaltes sei durch Stickstoffmangel bedingt gewesen. Nun wurde jedoch in allen Versuchen nach Überschreiten des Maximums in jeder Lichtperiode 2mal $NH_3$ zugegeben und der Gesamt-N-Gehalt der Nährlösung dadurch etappenweise erhöht. Trotzdem war der Abfall des relativen Gesamt-N-Gehaltes der Algensubstanz nicht aufzuhalten. Umgekehrt kann der Anstieg im ersten Intervall der Lichtperioden nicht durch ein Überangebot an Stickstoff bedingt gewesen sein, da hier bewußt auf eine $NH_3$-Zufuhr verzichtet wurde.

In Abb. 9 ist in einem Beispiel der Verlauf des Gesamt-N-Gehaltes der Nährlösung angegeben. Er wurde berechnet als Differenz zwischen dem Gesamt-N-Gehalt der Suspension und dem Gesamt-N-Gehalt der

zum entsprechenden Zeitpunkt darin befindlichen Algensubstanz. Der Gesamt-N-Gehalt der Suspension wurde aus ihrem Ausgangs-N-Gehalt und der bis zum entsprechenden Zeitpunkt zugeführten $NH_3$-Menge berechnet. Wie in diesem Beispiel stieg auch in allen anderen Versuchen der Gesamt-N-Gehalt der Nährlösung stufenweise an, ohne daß dadurch der Abfall des relativen Gesamt-N-Gehaltes der Algensubstanz verhindert werden konnte.

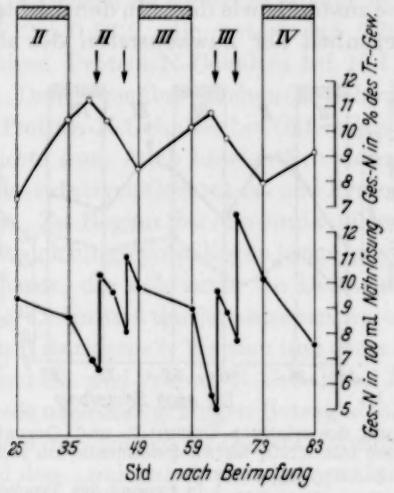



Abb. 9. Der Einfluß des Gesamt-N-Gehaltes der Nährlösung auf den relativen Gesamt-N-Gehalt der Algensubstanz.

—o———o— Gesamt-N in Prozent des Trockengewichts
—●———●— Gesamt-N in 100 ml Nährlösung

Gesamt-N in der Nährlösung = Gesamt-N in der Suspension minus Gesamt-N in der Algensubstanz. Gesamt-N in der Suspension berechnet aus dem Gesamt-N-Gehalt der beimpften Nährlösung und der $NH_3$-Zugabe

↓: Zugabe von 2,5 %igem $NH_3$ bis zum Erreichen von $p_H$ 7

Die Schwankungen des relativen Gesamt-P-Gehaltes der Algensubstanz können ebenfalls nicht mit entsprechenden Veränderungen des Phosphatgehaltes der Nährlösung in Verbindung gebracht werden. Dieser wurde während der ganzen Versuchszeit, also von der Beimpfung bis zum Ende der Dunkelperiode IV nicht ergänzt durch Phosphatzufuhr von außen, mußte also wegen der Phosphataufnahme der Algen laufend abgefallen sein. Trotzdem beobachtet man bis zum Ende der Dunkelperiode IV insgesamt einen Anstieg des relativen Gesamt-P-Gehaltes der Algensubstanz (vgl. Abb. 8). Damit soll nicht gesagt sein, daß das Nährstoffangebot für den relativen Stickstoff- und Phosphorgehalt ganz ohne Bedeutung ist. Es ist z. B. durchaus denkbar, daß er bei einer wesentlich höheren Ammonium- und Phosphatkonzentration in der Nährlösung in den Algen im Mittel höher liegt als in unserem Falle, ganz abgesehen da-

von, daß er bei einem ausgesprochenen Mangelzustand natürlich zwangsläufig absinken muß.

### *II. Versuche mit $KNO_3$ als Stickstoffquelle*

Die Veränderungen des auf das Trockengewicht bezogenen Gehalts an Gesamt-N- und Gesamt-P waren im Prinzip dieselben wie in den Kulturen mit $(NH_4)_2HPO_4$ als Stickstoffquelle (Abb. 10). Sie kamen auch auf die gleiche Weise zustande wie dort: In den Lichtperioden durch eine Über- bzw. Unterlegenheit der Zuwachsraten des absoluten Gesamt-N

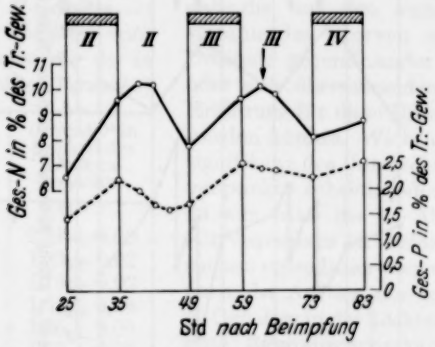



Abb. 10. Die Veränderung des relativen Gesamt-N- und Gesamt-P-Gehaltes der Algensubstanz in Kulturen mit $KNO_3$ als Stickstoffquelle im Licht-Dunkel-Wechsel

—o———o— Gesamt-N
--o-----o-- Gesamt-P
} in Prozent des Trockengewichts

↓: Zugabe von 1,14 g $KNO_3$ je 1 Liter Nährlösung

und Gesamt-P gegenüber der des Trockengewichts, in den Dunkelperioden durch Abnahme des Trockengewichts und Zunahme des absoluten Gesamt-N und Gesamt-P. Auch diese Versuche konnten im Prinzip mehrmals reproduziert werden und werden hauptsächlich deshalb erwähnt, um einen Vergleich der Ergebnisse mit denen von TAMIYA u. Mitarb. und PIRSON u. Mitarb. zu erleichtern, die beide $KNO_3$ als Stickstoffquelle benutzen.

Auch bei der Verwendung von Nitrat kann das Stickstoffangebot in der Nährlösung keinen Einfluß auf die Veränderungen des relativen Gesamt-N-Gehaltes der Algensubstanz gehabt haben, da in der Lichtperiode III etwa derselbe Verlauf zu beobachten war wie in der Lichtperiode II, obwohl erst nach dem Überschreiten des Maximums in der Lichtperiode III $KNO_3$ nachgegeben wurde. Bis zu diesem Zeitpunkt mußte also der Nitratgehalt des Mediums abgenommen haben. Trotzdem war unmittelbar vor der Nitratzugabe ein Anstieg des relativen Gesamt-N-Gehaltes zu beobachten und nachher ein Abfall, obwohl hier kein Stickstoffmangel vorliegen konnte (Abb. 10).

## Diskussion

Die Versuche an *Scenedesmus obliquus* haben gezeigt, daß beim Durchlaufen des Entwicklungscyclus größere Schwankungen des relativen Gesamt-N- und Protein-N-Gehaltes auftreten können, als sie z.B. von HASE et al. (1957) für *Chlorella ellipsoidea* beschrieben wurden. In den $KNO_3$-Kulturen lag der höchste bei *Scenedesmus* gefundene relative Gesamt-N-Gehalt bei $10{,}54 \pm 0{,}25\%$, der tiefste bei $6{,}51 \pm 0{,}26\%$. In den $(NH_4)_2HPO_4$-Kulturen lag die obere Grenze des relativen Gesamt-N-Gehaltes bei $11{,}12 \pm 0{,}16\%$, die untere bei $7{,}50 \pm 0{,}06\%$, die obere Grenze des relativen Protein-N-Gehaltes bei $10{,}11 \pm 0{,}42\%$, die untere bei $6{,}72 \pm 0{,}08\%$. Demgegenüber machen die Schwankungen des relativen Gesamt-N- und Protein-N-Gehaltes bei *Chlorella ellipsoidea* nur rund 1% des Trockengewichts aus. Auch hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs der Veränderungen des relativen Gesamt-N- und Protein-N-Gehaltes ergeben sich Unterschiede. Zu Beginn des hier und von den japanischen Autoren untersuchten Entwicklungscyclus liegen junge, aus der Zellteilung hervorgegangene Zellen vor, die sich zuvor im Dunkeln befunden haben (vgl. Abb. 1). Nach der Definition der japanischen Autoren handelt es sich dabei um die „nascent dark cells". Werden nun diese Zellen belichtet, steigt der relative Gesamt-N- und Protein-N-Gehalt bei Scenedesmus an, während er bei *Chlorella* um einen geringen Betrag abfällt. Weiterhin fehlt bei *Chlorella ellipsoidea* der Anstieg im Dunkeln, weshalb zwischen den reifen „light cells" und den „nascent dark cells" praktisch kein Unterschied besteht, also auch im Verlauf der Lichtperiode nicht erreicht wird.

Auch der relative Kohlenhydratgehalt verändert sich in unterschiedlicher Weise. Nach HASE et al. (1957) steigt er in den jungen Zellen, d. h. beim Übergang vom Stadium $D_n$ zum Stadium $D_a$ zunächst an, fällt wieder ab, erhöht sich beim Übergang zu den $L_3$-Zellen nochmals und wird im Dunkeln wieder auf den Ausgangswert der $D_n$-Zellen erniedrigt. Im Gegensatz zu *Scenedesmus* liegen hier also 2 Maxima und Minima vor. Während nun in unserem Falle dem starken Anstieg des Kohlenhydratgehaltes ein Abfall im Proteingehalt parallel geht und umgekehrt, fehlt bei *Chlorella* ein solcher Zusammenhang. Statt dessen scheint sich nach der Darstellung von HASE et al. (1957) eine nicht identifizierte Substanz, die vielleicht organische Säuren enthält, so zu verändern, daß sie immer dann einen maximalen Wert hat, wenn die Kohlenhydrate im Minimum sind, und ganz verschwindet, wenn diese ihren maximalen Wert haben. Ein kausaler Zusammenhang kann hier nur vermutet werden. Immerhin ist es denkbar, daß bei *Chlorella* aus einem Teil der Kohlenhydrate im Dunkeln nicht Protein, sondern organische Säuren gebildet werden. Da nach HASE et al. (1957) bei *Chlorella* der relative Gesamt-S-Gehalt im Dunkeln stark ansteigt, könnte man auch an eine Beteiligung schwefelhaltiger Substanzen denken.

Für die Veränderungen des relativen Gesamt-P-Gehaltes ist in unserem Falle wesentlich, daß sie in irgendeiner Weise von der Zellkonzentration beeinflußt werden. In den Synchronkulturen der japanischen Autoren (HASE et al. 1957) lag die Zellzahl vor der Teilung bei $8 \cdot 10^6$ Z/ml, nach der Teilung bei $30 \cdot 10^6$ Z/ml. Ein Vergleich der von ihnen angegebenen Veränderungen im relativen Phosphorgehalt mit den hier beschriebenen ist also am ehesten in der Lichtperiode II und Dunkelperiode III möglich (Zellzahl in der Lichtperiode $17 \cdot 10^6$ Z/ml, dann Anstieg im Dunkeln auf rund $70 \cdot 10^6$ Z/ml). Es zeigt sich nun insofern gute Übereinstimmung, als bei *Scenedesmus* der relative Phosphorgehalt in diesem Zeitraum zwischen 1,5% und 2,2% schwankt, während seine Grenzen bei *Chlorella* bei 1,7% und 2,2% liegen. Außerdem fällt er hier wie dort sofort nach Lichtbeginn ab und steigt noch in der Lichtperiode wieder an. Es fehlt bei *Chlorella ellipsoidea* allerdings der Anstieg im Dunkeln, vielleicht aus demselben Grunde, warum hier auch der Anstieg des relativen Stickstoff- und Proteingehaltes ausbleibt.

Ob die genannten Unterschiede auf den Eigenarten der verwendeten Algenstämme beruhen oder auf Unterschieden in der Synchronisations- und Versuchsmethodik — vielleicht auf Differenzen in der Zusammensetzung des Lichts — kann hier nicht entschieden werden. Immerhin können, wie zu Beginn schon erwähnt, auch bei *Chlorella ellipsoidea* größere Schwankungen des relativen Stickstoffgehaltes auftreten (TAMIYA et al. 1953), die zudem im Prinzip mit den hier beschriebenen übereinstimmen. (Der relative Stickstoffgehalt stieg dort beim Belichten der „nascent dark cells" zunächst an und fiel dann beim Übergang zu den „light cells" wieder ab.)

Weiteren Untersuchungen muß es auch vorbehalten bleiben, die Natur der in der Dunkelperiode gebildeten phosphorhaltigen Substanz(en) zu klären. Man könnte zwar daran denken, daß im Zusammenhang mit der Zellteilung DNS synthetisiert wird, doch spricht gegen diese Annahme, daß der absolute und relative Gesamt-P-Gehalt im Dunkeln auch dann zunimmt, wenn keine Zellteilungen erfolgen (Abb. 8). Gegen eine DNS-Synthese in der Dunkelperiode sprechen auch die Befunde von LORENZEN und RUPPEL (1960) an *Chlorella pyrenoidosa*. Sie fällt hier in der Hauptsache in den zweiten Entwicklungsabschnitt, in dem die Kernteilungen ablaufen und die Zellteilung komplett induziert wird, zu einem geringeren Teil in den nachfolgenden dritten Entwicklungsabschnitt, wird aber auf jeden Fall noch in der teilungsfreien Zeit abgeschlossen. Nach den Angaben dieser Autoren lassen sich die bei *Chlorella* gefundenen Entwicklungsabschnitte auch bei *Scenedesmus obliquus* nachweisen, folgen also zweifellos auch in unserem Falle in der angegebenen Reihenfolge aufeinander. Sie müssen im Unterschied zu *Chlorella pyrenoidosa* lediglich etwas verkürzt sein, da die Freisetzung der Autosporen schon

kurze Zeit vor oder nach Dunkelbeginn einsetzt. Wenn also die teilungsfreie Zeit etwa mit Dunkelbeginn abgeschlossen wird, so müßte nach den Erfahrungen von LORENZEN und RUPPEL auch die DNS-Synthese bis dahin abgeschlossen sein.

Auf der anderen Seite ist es denkbar, daß der Anstieg des relativen Gesamt-P-Gehaltes in den letzten Stunden der Lichtperiode II (Abb. 3) gerade durch die hier stattfindende DNS-Synthese bedingt ist. So beobachtete IWAMURA (1955) einen Anstieg des auf das Trockengewicht bezogenen DNS-Gehaltes beim Übergang von den $L_2$- zu den $L_3$-Zellen, d.h. im Stadium der Kernteilung, das unter unseren Bedingungen etwa in das letzte Drittel der Lichtperiode fallen dürfte.

Eine RNS-Synthese in der Dunkelperiode im Zusammenhang mit der Proteinsynthese wird durch die Befunde von LORENZEN und RUPPEL (1960) ebenfalls unwahrscheinlich gemacht, nach welchen die RNS-Synthese in der Hauptsache in den ersten Entwicklungsabschnitt fällt. IWAMURA (1955) beobachtete sogar eine Abnahme des RNS-Gehaltes von *Chlorella ellipsoidea* bei 70stündiger Inkubation im Dunkeln. Dagegen könnte man nach den Ergebnissen von NIHEI (1957) an Phosphorproteine denken. Bei der Umwandlung der $L_3$-Zellen in die $L_4$-Zellen, also bei Inkubation im Dunkeln, nahm die als Restfraktion bezeichnete P-Fraktion, die in der Hauptsache Phosphorproteine enthalten soll, auf das Trockengewicht bezogen zu, während die die Hauptmasse des Phosphors enthaltende säureunlösliche Fraktion ebenso wie der Gesamt-P bezogen auf das Trockengewicht abnahm. Auch bei der Inkubation $P^{32}$-markierter Zellen im Dunkeln nahm die relative Aktivität lediglich in der Rest-Fraktion zu, in den anderen Fraktionen dagegen ab. NIHEI vermutet, daß der Phosphor zunächst über die säurelösliche Fraktion in die säureunlösliche gelangt und von hier aus in einem lichtunabhängigen Prozeß schließlich in Protein eingebaut wird.

Ob an den von LORENZEN und RUPPEL (1960) und von PIRSON und KOWALLIK (1960) an *Chlorella pyrenoidosa* und an den hier an *Scenedesmus obliquus* festgestellten Verschiebungen in der Hauptsyntheserichtung eine endogene Komponente beteiligt ist, müßten Versuche zeigen, in denen vom Wechsellicht zum Dauerlicht übergegangen wird. Dies könnte etwa am Ende der Lichtperiode II geschehen, und man könnte das Verhalten der hier vorliegenden kohlenhydratreichen und proteinarmen Zellen studieren, die sich in der sonst anschließenden Dunkelperiode III völlig geteilt und ihre Stärkereserven in andere Substanzen übergeführt haben würden. Da die Zellteilung nicht an Dunkelheit gebunden ist (PIRSON und LORENZEN 1958), kann man annehmen, daß sie auch beim Übergang zum Dauerlicht eintreten würde, so daß man also — eine schubartige Teilung vorausgesetzt — nach einigen Stunden junge Zellen vorliegen hätte, die sich gegenüber den Zellen am Ende der Dunkel-

periode III durch einen immer noch hohen Kohlenhydrat- und einen entsprechend niedrigen Proteingehalt auszeichnen. Werden nun diese Zellen weiterhin überwiegend Kohlenhydrat synthetisieren oder werden sie auch im Licht ihre Stärkereserven zunächst in Protein und andere Substanzen umbauen, um wieder ein günstigeres Verhältnis der einzelnen Zellkomponenten zueinander herzustellen? Sollte dies der Fall sein, hätte man es zweifellos mit einer endogenen Stoffwechseländerung zu tun. Der Ausfall dieses Experimentes wäre vor allem dann sehr interessant, wenn nicht Weißlicht geeigneter Zusammensetzung oder Blaulicht verwendet werden würde, in dem die Zellen ohnehin zur Proteinsynthese neigen, sondern Rotlicht, in dem schon zu Beginn des Entwicklungscyclus die Kohlenhydratsynthese überwiegt.

Daß die Hauptsyntheserichtung vom Entwicklungszustand der Zellen und von der Qualität des verwendeten Lichtes abhängt, muß auch für die Photosyntheseforschung von erheblichem Interesse sein. Es ist in neuerer Zeit gezeigt worden, daß der Anteil der markierten Aminosäuren sehr hoch ist, wenn das Fixierungsexperiment nicht in aqua dest., sondern in einem stickstoffhaltigen Suspensionsmedium durchgeführt wird (HOLM-HANSEN et al. 1959). Es ist durchaus zweifelhaft, ob dasselbe Ergebnis zu erzielen ist, wenn nur „alte" Zellen verwendet werden, in denen das Überwiegen der Kohlenhydratsynthese auch durch hohe Stickstoffgaben nicht zu brechen ist (vgl. Abb. 9). Man wird das Ergebnis eines Markierungsexperimentes wohl immer auf die jeweiligen Versuchsbedingungen beschränken müssen, es sei denn, man hätte festgestellt, daß es von der Art des Suspensionsmediums, dem Zellalter, der Lichtqualität, und gegebenenfalls noch weiteren möglichen Faktoren unabhängig ist.

## Zusammenfassung

1. Ein Stamm von *Scenedesmus obliquus* wurde in einer Schüttelapparatur im Licht-Dunkel-Wechsel (14:10 Std) synchron kultiviert. Unter den gewählten Versuchsbedingungen konnten auch bei höherer Zellkonzentration ($17—70 \cdot 10^6$ Z/ml) nahezu komplett synchronisierte Kulturen erzielt werden. Die Zellteilungen erfolgten fast ausschließlich in den Dunkelperioden.

2. Der auf das Trockengewicht bezogene Gesamt-N-Gehalt der Algensubstanz stieg in den Dunkelperioden an, durchlief in den ersten Stunden nach Lichtbeginn ein Maximum und fiel dann bis zum Dunkelbeginn ab. Der Unterschied zwischen dem maximalen und dem minimalen Wert betrug bis zu 4,0% der Trockensubstanz. Die Veränderungen waren im Prinzip von der Zellkonzentration und dem Stickstoffgehalt der Nährlösung unabhängig.

3. Der auf das Trockengewicht bezogene Gesamt-P-Gehalt der Algensubstanz stieg in den Dunkelperioden ebenfalls an. In den Lichtperioden

fiel er insgesamt ab, und zwar bei hoher Zellkonzentration ($70 \cdot 10^6$ Z/ml) nicht so stark wie bei geringer Zellkonzentration ($17 \cdot 10^6$ Z/ml).

4. Die in einer Licht-Dunkel-Periode untersuchten Veränderungen des in Trichloressigsäure unlöslichen N und P stimmten im Prinzip mit denen des Gesamt-N und Gesamt-P überein.

5. Der auf das Trockengewicht bezogene Gesamt-Kohlenhydratgehalt stieg in der Lichtperiode zunächst wenig, dann aber sehr stark an. In der Dunkelperiode sank er wieder auf seinen Ausgangswert ab. Seine Schwankungen beruhten in der Hauptsache auf denen des relativen Stärkegehaltes.

6. Aus den Ergebnissen wird geschlossen, daß im Verlauf des Zellwachstums eine Verschiebung in der Hauptsyntheserichtung eintritt. In den jungen Zellen überwiegt die Proteinsynthese, in den älteren die Kohlenhydratsynthese. Beim Heranwachsen der Zellen wird insbesondere die Stärkesynthese intensiviert. In der Dunkelperiode wird der Stärkevorrat verbraucht und zum Aufbau von Protein und P-haltiger organischer Substanz herangezogen.

7. Die Veränderungen des relativen Gesamt-N und Gesamt-P-Gehalts waren im Prinzip unabhängig davon, ob $(NH_4)_2HPO_4$ oder $KNO_3$ als Stickstoffquelle verwandt wurde.

8. Die Ergebnisse werden mit denen anderer Autoren verglichen.

Frau Müller-Wecker und Fräulein Böhm vom Max Planck-Institut für Ernährungsphysiologie danke ich herzlich für ihre Unterstützung bei der Durchführung der analytischen Arbeiten.

## Literatur

Arnon, D. I.: Microelements in culture solution experiments with higher plants. Amer. J. Bot. **25**, 322—325 (1938).

—, P. S. Ichioka, G. Wessel, A. Fujiwara and J. T. Wolley: Molybdenum in relation to nitrogen metabolism. I. Assimilation of nitrate by *Scenedesmus*. Physiol. Plantarum (Cph.) 8, 538—551 (1955).

Bongers, L. H. J.: Aspects of nitrogen assimilation by cultures of green algae. Meded. Landbouwhoogeschool Wageningen **56**, 1—52 (1956).

Brown, A. H.: The carbohydrate constituents of *Scenedesmus* in relation to the assimilation of carbon by photoreduction. Plant Physiol. **23**, 331—337 (1948).

Hase, E., Y. Morimura and H. Tamiya: Some data on the growth physiology of *Chlorella* studied by the technique of synchronous culture. Arch. Biochem. **69**, 149—165 (1957).

Holm-Hansen, O., K. Nishida, V. Moses and M. Calvin: Effects of mineral salts on short-term incorporation of carbon dioxide in *Chlorella*. J. exp. Bot. **10**, 109—124 (1959).

Iwamura, T.: Change of nucleic acid content in *Chlorella* cells during the course of their life cycle. J. Biochem. **42**, 575—589 (1955).

—, E. Hase, Y. Morimura and H. Tamiya: Life cycle of the green alga *Chlorella* with special reference to the protein and nucleic acids content of cells in successive formative stages. Ann Acad. Sci. fenn. A **60**, 89—102 (1955).

Lorenzen, H.: Synchrone Zellteilungen von *Chlorella* bei verschiedenen Licht-Dunkel-Wechseln. Flora (Jena) **144**, 473—496 (1957).

—, u. H.-G. Ruppel: Versuche zur Gliederung des Entwicklungsverlaufs der *Chlorella*-Zelle. Planta (Berl.) **54**, 394—403 (1960).

Meffert, M.-E.: Über den Einfluß von Kohlendioxyd auf die Stickstoff-Assimilation von *Scenedesmus obliquus* im Licht-Dunkel-Wechsel. Arch. Mikrobiol. **37**, 49—56 (1960).

Morimura, Y.: Synchronous culture of *Chlorella*. I. Kinetic analysis of the life cycle of *Chlorella ellipsoidea* as affected by changes of temperature and light intensity. Plant Cell Physiol. **1**, 49—62 (1959).

Nihei, T.: A phosphorylative process, accompanied by photochemical liberation of oxygen, occurring at the stage of nuclear division in *Chlorella* cells. I. J. Biochem. **42**, 245—256 (1955). — II. J. Biochem. **44**, 389—396 (1957).

—, T. Sasa, S. Miyachi, K. Suzuki and H. Tamiya: Change of photosynthetic activity of *Chlorella* cells during the course of their normal life cycle. Arch. Mikrobiol. **21**, 156—166 (1954).

Pirson, A., u. W. Kowallik: Wirkung des blauen und roten Spektralbereiches auf die Zusammensetzung von *Chlorella* bei Anzucht im Licht-Dunkel-Wechsel. Naturwissenschaften **47**, 476—477 (1960).

—, u. H. Lorenzen: Ein endogener Zeitfaktor bei der Teilung von *Chlorella*. Z. Bot. **46**, 53—65 (1958).

Rohde, W.: Environmental requirements of fresh water plankton algae. Symbol. bot. upsal. **10**, 1—149 (1948).

Sorokin, C.: The effect of the past history of cells of *Chlorella* on their photosynthetic capacity. Physiol. Plantarum (Cph.) **11**, 275—283 (1958).

Syrett, P. J.: The assimilation of ammonia by nitrogen-starved cells of *Chlorella vulgaris*. Part II. The assimilation of ammonia to other compounds. Ann. Botany, N. s. **17**, 21—36 (1953).

Tamiya, H., T. Iwamura, K. Shibata, E. Hase and T. Nihei: Correlation between photosynthetic and light-independent metabolism in the growth of *Chlorella*. Biochim. biophys. Acta **12**, 23—40 (1953).

Dr. H.-M. Müller,
Botanisches Institut der Universität Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9—11

Planta 56, 575—606 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Innsbruck

# JAHRESGANG DES ASSIMILATIONS- UND RESPIRATIONSVERMÖGENS VON *OLEA EUROPAEA* L. SSP. *SATIVA* HOFF. ET LINK., *QUERCUS ILEX* L. UND *QUERCUS PUBESCENS* WILLD. AUS DEM NÖRDLICHEN GARDASEEGEBIET

Von

WALTER LARCHER

Mit 9 Textabbildungen

*(Eingegangen am 23. Januar 1961)*

## A. Einleitung

Begünstigt durch das milde Winterklima erreicht am Gardasee eine Reihe mediterraner Arten die absolute Nordgrenze ihrer Verbreitung bzw. ihres Anbaues.

Das Gardaseegebiet gehört trotz seiner relativ milden Winter klimatisch nicht zum Mediterrangebiet (vgl. GRISEBACH 1872, S. 244, KÖPPEN 1931, SCHRÖTER 1936, GIACOMINI und FENAROLI 1958). Zwar sind die Winter selbst am Nordufer des Gardasees in ihren Minimumtemperaturen nicht strenger als an der Nord- und Höhengrenze der mediterranen Macchienregion, doch bleiben die Tagesmaxima während der Wintermonate stets tiefer. Der Winter ist rauher und länger: In Riva und Arco herrscht 3 Monate eine Mitteltemperatur, die niedriger oder gleich der Mitteltemperatur des kältesten Monats am Nordrand des Mittelmeergebiets ist. Andererseits fehlt, besonders dem Nordufer des Gardasees, die regelmäßige Sommerdürre. Nur durchschnittlich jedes dritte Jahr stellt sich im Sommer oder Frühherbst Dürre im Sinne von GAUSSEN (1954) und WALTER (1955) ein, Trockenheit im Sinne WALTERS allerdings fast jeden Sommer. Dazwischen schieben sich Jahre mit regenreicherem Sommer. Sommertrockenheit fehlt somit nicht gänzlich, und sie mag sich lokal auf kalkig-karstigem Gelände oder an steilen Hanglagen, von denen der größte Teil der sommers meist wolkenbruchartigen Niederschläge abfließt, schärfer auswirken; sie erreicht aber doch niemals das Ausmaß der typischen mediterranen Sommerdürre. Die Kombination relativ milder Winter mit Sommern, die dank der Seenähe nicht allzu heiß und selten extrem trocken sind, hat zur Folge, daß ähnlich wie in Nordspanien (WALTER 1956) sommergrüner Laubwald der Flaumeichenstufe und Steineichengebüsch ineinandergreifen, wobei je nach Bodenverhältnissen und kleinklimatischer Begünstigung der eine oder andere Bestand an der Grenze seiner Wettbewerbsfähigkeit steht.

Von der Nordgrenze der Ölbaumkultur am Gardasee hatte ich schon in den Jahren 1952—1954 mediterrane Immergrüne geholt und den Jahresgang ihrer Kälteresistenz bestimmt (LARCHER 1954).

Es wäre jetzt verlockend, gerade hier an Ort und Stelle den Einfluß des Klimas auf die Photosyntheseleistung und Atmung typischer Vertreter der submediterranen Flaumeichenstufe und der immergrünen Steineichenstufe gasanalytisch quantitativ vergleichend im Jahresverlauf zu verfolgen. Zu einer Konstitutionsanalyse am Standort gehören nun neben dem $CO_2$-Gaswechsel noch Transpiration, Wasserzustand und die wichtigsten Standortsbedingungen gleichzeitig mitbestimmt, da „aus der Komplexität und Varianz des ökologischen Geschehens die Schwierigkeit, ja oft Unmöglichkeit entspringt, Messungen verschiedener physiologischer Funktionen, die an verschiedenen Tagen gewonnen wurden, miteinander in Beziehung zu setzen" (STOCKER 1957, S. 419).

Allein schon wegen des zu hohen hierzu erforderlichen personellen, zeitlichen und finanziellen Aufwandes mußte ich mich vorläufig damit zufrieden geben, die Versuchsobjekte unter standardisierten Bedingungen im Laboratorium zu untersuchen, wo der Wasserzustand der Proben stets optimal gehalten, Licht und Temperatur dagegen variiert werden konnten.

Das Ergebnis sind Licht- und Temperaturabhängigkeitskurven des **Assimilationsvermögens**[1]. In Übereinstimmung mit PISEK und WINKLER (1958) verstehe ich darunter *jene Assimilationsintensität, die eine gegebene Probe in ihrem momentanen Entwicklungs-, Aktivitäts- und Anpassungszustand bei optimaler Wasserversorgung in den einzelnen Temperatur- und Lichtstufen einhält.*

Das Ass.V. eignet sich recht gut, um den Einfluß des Licht- und Temperaturklimas auf den Kohlenstofferwerb zu untersuchen, wie die Erfahrungen von PISEK und WINKLER (1958) an Coniferen und die von WINKLER (1960) an Kulturpflanzen bewiesen haben. Der Einfluß eventueller *Sommerdürre* auf die Kohlenstoffassimilation wird mit dieser Methode nur erfaßt, wenn der Photosyntheseapparat durch die Trockenheit *nachhaltig* verändert worden ist, das heißt, wenn sich nach wenigstens 24 Std Aufsättigung der Proben ein solcher Einfluß bemerkbar macht. Eine nachhaltige Wirkung der Dürre auf die *Höhe* des Ass.V. war — dies sei gleich vorweggenommen — an *Olea* und *Quercus ilex* vom Mt. Brione bei Riva auch nach einem verhältnismäßig trockenen Monat (September 1958, „Trockenzeit" im Sinne von WALTER 1955) nicht nachweisbar. Bei *Qu. pubescens* erscheint die Leistungsfähigkeit der Photosynthese etwas gedrückt, doch liegen für die Flaumeiche aus versuchstechnischen Gründen zu wenig Messungen vor, um Genaueres aussagen zu können. Dieser Frage nachzugehen, ist eine Sache für sich.

## B. Material und Methode

### I. Untersuchungsmaterial

Als Vertreter der mediterranen Hartlaubflora wählte ich den Ölbaum, *Olea europaea*, und die Steineiche, *Quercus ilex*, als Vertreter der submediterranen Flaumeichenstufe *Quercus pubescens*.

[1] Hinfort Ass.V. abgekürzt.

***Olea europaea* L., ssp. *sativa* Hoff. et Link.** Vom Ölbaum werden im Gardaseegebiet überwiegend *Lokalsorten* angebaut, deren systematische Stellung zu den übrigen Sorten des Kulturölbaums noch unklar ist (Ciferri 1950, Morettini 1950). Unter den Lokalsorten herrscht im Norden des Gebietes die Sorte „*Casaliva*" vor, der auch meine Versuchsbäume angehören. Alle 5 Bäume, von denen Versuchsmaterial entnommen wurde, sind erbgleiche Veredelungen, genau gleich alt (24 Jahre) und etwa 6 m hoch. Der Neutrieb entfaltet sich mit besonderer Lebhaftigkeit von der ersten Aprilwoche an. Er ist anfangs Juli weitgehend ausgereift. Nachher werden fortlaufend bis in den Winter noch wenige Blätter neu angelegt und ausdifferenziert. Durchschnittlich bleiben die Blätter 3, selten 4 Jahre am Leben.

***Quercus ilex* L.** Im Gebiet sind 2 *Rassen* zu unterscheiden: Die eine zeichnet sich durch dunkelgrüne, oberseits glänzende, vollkommen glattrandige Lanzettblätter mit stets flach ausgebreiteter Spreite (auch bei Sonnenblättern!) aus, die zweite ist an den mattgrünen, andeutungsweise gezähnten, elliptisch-ovalen Sonnenblättern mit kräftiger Längskrümmung zur Unterseite zu erkennen. Die Schattenblätter beider Rassen sind größer, dünn, aber steif und immer vollkommen flach. Mein *Versuchsmaterial* bezog ich von 3 freistehenden Exemplaren der Rasse mit den flachen, glänzenden Lanzettblättern. Die Sträucher waren $2^1/_2$—3 m hoch und hatten wie alle freistehenden Steineichen eine dichtgeschlossene Krone. Der Austrieb beginnt anfangs April und kommt innerhalb von 2 Wochen zum Abschluß. Die anfangs hellgrünen, weichen Blätter sind Ende Juli dunkel und derb. Sie haften durchschnittlich 2, selten 3 Jahre am Zweig. I.d.R. folgt dem Frühjahrsaustrieb kein Johannistrieb, sondern das Längenwachstum ruht nach Ausbildung einer gedeckten Terminalknospe bis zum nächsten Jahr.

***Quercus pubescens* Willd.** Von den Flaumeichen, die da und dort als Stangenholz aufwachsen, gleicht kaum ein Exemplar in Blattform und Habitus dem anderen. So mußte ich mich auf ein einziges, etwa 4 m hohes Bäumchen festlegen. Dieses Bäumchen trug verhältnismäßig kleine bis mittelgroße, mattgrüne, fast kahle Blätter mit keilförmigem Grund, spitzen Lappen und seichten Buchten. Die Knospen springen erst Mitte April, die Laubentfaltung kommt dann wie bei allen sommergrünen Eichen rasch zum Abschluß. In der letzten Oktoberwoche beginnen die Blätter zu vergilben; Jungpflanzen behalten auch den Winter über einige grüne Blätter.

## II. Entnahme und Transport der Proben

Die Versuchspflanzen stehen wenig voneinander entfernt in 240 m Meereshöhe auf dem durchschnittlich 20° geneigten Westhang des *Mt. Brione*, einer 376 m hohen Erhebung aus tertiären Kalken und grauen Miocänsandsteinen zwischen Riva und Torbole am Nordufer des Gardasees (Dalla Torre 1913, Dietrich-Kalkhoff 1916, Larcher 1954, Abb. 1, S. 608). Rund 20 km Luftlinie nördlich des Mt. Brione findet zwischen Pordenone und Vezzano im Sarcatal die Olivenkultur ihre absolute europäische Nordgrenze, nicht viel weiter nördlich verschwinden auch die Steineichenbestände.

Die Versuchsölbäume stehen in N—S verlaufender Reihe am oberen Rande eines der höchstgelegenen Ölgärten. Gleich dahinter schließt auf wieder steiler ansteigendem Hang lichter Flaumeichen-Hopfenbuchen-Mischwald mit eingesprengten Steineichen[1] an. Hier befinden sich die Versuchspflanzen der beiden Eichenarten innerhalb eines 80×80 m messenden Gevierts.

Von markierten Bäumen und Büschen wurden im Morgengrauen 1—$1^1/_2$ m lange, gegen SE bis SW exponierte Äste aus der Kronenperipherie abgesägt, in feuchte Tücher eingeschlagen, mit doppelten Nylonsäcken umhüllt und innerhalb

[1] Floristische Zusammenstellung s. bei Pitschmann, Reisigl und Schiechtl (1959), S. 14, Nr. 1.

der nächsten 6 Std nach Innsbruck geschafft. In *Innsbruck* wurden die Äste mit frischen Schnittflächen in Wasser eingestellt und bei Temperaturen, die in Riva vor der Entnahme geherrscht hatten, aufbewahrt.

Besondere Sorgfalt wurde auf die *Auswahl* von nach Alter, Größe, Insertion und Ausprägung einheitlichen Zweigproben für die Assimilationsversuche verwandt. Versuchsbereite Zweigstücke von *Olea* und *Qu. ilex* trugen 6—8, die Kurztriebe von

Tabelle 1

| Pflanze | Blätter allein | | | Ganze Zweige | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Dicke* der Lamina [$\mu$] | Mittlere *Oberfläche* pro Blatt [dm² doppelseitig] | *Hartlaubcharakter:* Blatttrockengewicht pro Blattfläche (doppelseitig) [g/dm²] | Anteil des *Blatttrockengewichts* am Trockengewicht des ganzen *Zweiges* [g Blatt-T.Gew./g Zweig-T. Gew.] | *Wassergehalt* der Zweige in % des Trockengewichts: turgeszent | *Wassergehalt* der Zweige in % des Trockengewichts: im Mittel aus allen Laboratoriumsversuchsproben |
| *Olea europaea* | | | | | | |
| *diesjährig* | | | | | | |
| unreif (Sommer) | 350 | 0,021 | **0,54** | — | 240 | — |
| unreif (Winter) | *390* | *0,013* | ***0,71*** | — | *128* | — |
| reif[1] (Sommer) | 425 | 0,026 | **0,82** | 0,83 | 137 | 126 |
| reif[1] (Winter) | *430* | *0,027* | ***0,92*** | *0,87* | *117* | *107* |
| *vorjährig* | | | | | | |
| im März | 450 | 0,029 | **0,95** | 0,85 | 116 | 108 |
| im Juli—August | 480 | 0,027 | **1,01** | 0,78 | 119 | 110 |
| *Qu. ilex* (nur Lichtblätter) | | | | | | |
| *diesjährig* | | | | | | |
| im Sommer | 240 | 0,030 | **0,76** | 0,81 | 108 | 101 |
| im Winter | *245* | *0,024* | ***0,83*** | *0,80* | *91* | *82* |
| *vorjährig* | | | | | | |
| im März | — | 0,025 | **0,84** | 0,81 | 94 | 83 |
| im Juli—August | 252 | 0,027 | **0,87** | 0,78 | 100 | 89 |
| *Qu. pubescens* | | | | | | |
| im Sommer | 140 | 0,082 | **0,42** | 0,83 | 148 | 136 |

*Qu. pubescens* 3—5 Blätter. Zum Bestimmen der Assimilation wurde jeweils nur *ein* solches Zweigstück, für Atmungsmessungen die 5—6fache Menge benützt.

Einige Daten (Tabelle 1, Mittelwerte; vgl. außerdem Abb. 1) mögen das Material näher kennzeichnen.

## III. Untersuchung von Assimilation und Atmung

### *1. Temperaturfaktor*

Zu jedem Termin wurden mit *Ultrarotabsorptionsschreiber* (URAS) zwischen $+5^0$C und $+40^0$C in Stufen zu je $2^0$ bei einer Beleuchtungsstärke von 10 Klx[2] Temperaturabhängigkeitskurven der *Assimilation* und von $+1^0$C bis $+40^0$C gradweise abgestufte Temperaturabhängigkeitskurven der *Respiration* aufgenommen.

[1] Höchstens 1—2 unreife oder halbreife Blättchen pro 5—7 reife Blätter am Versuchszweig.

[2] Kilolux = [1000 Lux].

Jede Stufe ist pro Species und Altersklasse in jedem der 13 Versuchstermine durch wenigstens 8 (Ass.) bzw. 6 (Resp.) Parallelproben belegt. *Exposition* jeder einzelnen Probe wenigstens 40, längstens 90 min; Störung durch Zeitfaktorwirkung (HARDER 1933, STÅLFELT 1939) war auch bei hoher Temperatur und Beleuchtung nie festzustellen. Im einzelnen hängt die Zeit für die Aktivierung der vollen Photosynthesetätigkeit von der Jahreszeit, der Versuchstemperatur und der Vorbeleuchtung ab. Im Winter benötigt die Assimilation, besonders bei *Olea*, längere Anlaufszeit als im Sommer; bei höherer Temperatur und nach unmittelbar vorhergegangener Beleuchtung stellt sich zu allen Jahreszeiten die volle Leistung rascher ein als bei niedriger Versuchstemperatur oder wenn die Beleuchtung unvermittelt an vorausgegangene Dunkelheit anschließt (vgl. auch Zusammenstellung der Ergebnisse aus der Literatur bei STÅLFELT 1960a, b). Methodik der Gaswechsel- und Blatttemperaturmessung im übrigen wie bei PISEK und WINKLER (1958, 1959) und WINKLER (1960).

Das Temperaturminimum und -maximum der Nettoassimilation wurde außerdem mit colorimetrischem Verfahren eudiometrisch bestimmt. Jede Temperaturstufe ist durch 20 Parallelproben belegt. Methodik wie bei LIETH (1958, 1960a).

### 2. *Lichtfaktor*

Als Lichtquelle diente die bei PISEK und WINKLER (1959) und WINKLER (1960) näher beschriebene *Xenonhochdrucklampe* (XBF 6000, Osram).

Bei 5°, 13°, 22° und 30°C wurden Lichtabhängigkeitskurven mit dem Gaswechselschreiber über die folgenden Beleuchtungsstufen durchgemessen: *0,3 Klx*, *1 Klx*, *3 Klx* (d.s. 0,02 cal·cm$^{-2}$·min$^{-1}$)[1], *10 Klx* (d.s. 0,10 cal·cm$^{-2}$·min$^{-1}$), *30 Klx* (d.s. 0,36 cal·cm$^{-2}$·min$^{-1}$) und etwa *50 Klx* (49 Klx entsprechend 0,76 cal·cm$^{-2}$·min$^{-1}$). Aus dem Kurvenverlauf ergibt sich die Kompensationsbeleuchtungsstärke für die betreffenden Temperaturen. Die Beleuchtungsstufen folgten einander im Versuch stets in progressiver Reihe, außerdem wurden Lichtversuche immer am frühen Morgen begonnen, um einem eventuell vorhandenen Tagesrhythmus der Stoffwechselaktivität zu entsprechen (LIETH 1960a, dort auch die einschlägige Literatur berücksichtigt).

### 3. *Wasserfaktor*

Während der Versuche tauchten die Zweige mit dem abgeschnittenen Ende in kleine Glasröhrchen mit destilliertem Wasser. Der Wasserzustand wurde dadurch innerhalb des Optimumspielraums gehalten. Die Assimilationsintensität weicht bei *Olea* und *Qu. ilex* mehr als 10% vom Optimalwert ab, wenn das Wasserdefizit 4—5% vom Sättigungsgewicht unter- und 11% überschreitet. Für *Qu. pubescens* ist der Optimalbereich enger, er liegt zwischen 3 und 7% Defizit. Versuche, in deren Verlauf die Proben die Obergrenze des Defizits überschritten haben, wurden hier nicht ausgewertet.

Über das Ass.V. langsam austrocknender Zweige von *Qu. pubescens* und *Qu. ilex* wurden Ergebnisse bereits veröffentlicht (LARCHER 1960), über die Erfahrungen mit *Olea* wird a.a.O. ausführlicher berichtet werden.

### 4. $CO_2$-*Faktor*

Das $CO_2$-*Angebot* hielt sich im Rahmen des natürlichen $CO_2$-Gehalts der Luft. Mittlerer $CO_2$-Gehalt der in den Rezipienten eintretenden Luft: 0,034 Vol.-%,

[1] Nach Messungen von Dr. E. WINKLER mit Sternpyranometer.

$CO_2$-Gehalt der Luft am Ausgang des Assimilationsrezipienten nie unter 0,025 Vol.-%. Nach HAMDORF (1959, Abb. 8) waren kräftig assimilierende Gemüsepflanzen ausreichend mit $CO_2$ versorgt, solange der $CO_2$-Gehalt der über die Pflanzen strömenden Luft von 0,029 Vol.-% auf nicht weniger als 0,023 Vol.-% fiel.

### *5. Kritische Beurteilung der angewendeten Methode*

*a) Verwendung abgeschnittener Zweige.* Die Frage nach dem Einfluß des Abschneidens der Zweige auf die Assimilation hat seit den Anfängen physiologisch-ökologischer Assimilationsforschung eine ganze Menge von Untersuchern beschäftigt (v.a. BOYSEN-JENSEN 1928, GASSNER und GOEZE 1932, STOCKER 1935, BAUER 1935, PISEK und TRANQUILLINI 1954, HAMDORF 1959 und GAASTRA 1959). Es ergab sich dabei vor allem in der eigens auf dieses Problem ausgerichteten Arbeit von BAUER, daß das Abschneiden der Blätter(!) deren Assimilationsfähigkeit — soweit erfaßbar — nur über die Störung des Wasserhaushaltes beeinflußt. Wird den abgetrennten Blättern Wasser geboten, so bleiben wassersatte Blätter turgeszent; Blätter, die an schlechter Wasserversorgung litten, sättigen sich alsbald auf. „Einstellen der abgeschnittenen Blätter in Wasser bewirkt eine Standardisierung der Assimilationswerte" (BAUER l.c. S. 448). Am abgeschnittenen und künstlich wasserversorgten Blatt mißt man gewöhnlich größere $CO_2$-Aufnahme als an Blättern intakter Pflanzen, deren Assimilationsintensität in erster Linie vom momentanen Wasserzustand zunächst des Blattes und im weiteren dem der ganzen Pflanze abhängt. Künstlich wasserversorgte Blätter können sich außerdem stärker mit Wasser aufsättigen als an der Pflanze sitzende, weil die sonst zwischen Wurzelsystem und Blatt eingeschalteten Leitungswiderstände entfallen. Ich suchte Übersättigung zu vermeiden, indem ich den Wassergehalt der Proben nie ganz auf den Betrag der Wasserkapazität ansteigen ließ, sondern höchstens bis zu 2—4% Defizit vom Sättigungsgewicht. Höherer Sättigungsgrad wurde am Wuchsort nicht gefunden.

*b)* Ein heikleres Problem ist die *Verwendung von tagelang eingefrischt lagerndem Material.* Schon PISEK und WINKLER (1958) haben in ihren Verwöhnungsreihen solches benützt. Das Abschneiden stört vor allem den Stoffzu- und -abtransport. YARWOOD (1946) erörtert dieses Problem eingehend anhand umfangreichen Materials aus der Literatur. Die Transportbehinderung kann nach 10—14 Tagen zu Unterernährung und dadurch herabgesetzter Stoffwechselaktivität führen (AUDUS 1935) oder aber Stimulation infolge Anhäufung nicht abgeführter Assimilate verursachen (YEMM 1935 u.a., zit. von YARWOOD).

Um Einflüsse der mehrtägigen Aufbewahrung auf das Ass.V. möglichst in Grenzen zu halten, ließ ich die entsprechend groß gewählten Äste bis unmittelbar vor dem Versuch unzerteilt und stellte sie im natürlichen Tag- und Nachtwechsel bei Temperaturen auf, die möglichst denen des Entnahmetages glichen. Auf zweierlei Weise wurde versucht nachzuprüfen, ob das Ass.V. sich während der im Sommer maximal 4, im Winter 7 Tage langen Lagerung ändert. Einerseits konnte ich Assimilationswerte vergleichen, die an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen unter sonst gleichen Umständen (Licht, Temperatur) gemessen wurden. Unter einem allfälligen Einfluß des Lagerns müßten die vom zweiten bis zum letzten Tag gewonnenen Werte von den am ersten Tag gewonnenen in bestimmter Richtung zunehmend abweichen. Solche Unterschiede waren nie faßbar, auch nicht bei der Atmung. Zweitens habe ich 4 Tage lang das Ass.V. von täglich frisch entnommenen Zweigen einer Flaumeiche im Botanischen Garten Innsbruck mit Proben von einem am ersten Tag abgeschnittenen und seither in Wasser tauchend aufbewahrten Ast desselben Baumes verglichen. Auch hier lagen eventuelle Unterschiede innerhalb der Streuung der Einzelwerte.

## C. Ergebnisse

### I. Assimilationsvermögen

*1. Temperaturabhängigkeit des Netto-Assimilationsvermögens und Lage der Kardinal„punkte" zu den verschiedenen Jahreszeiten. Eisbildung in den Blättern, Kälte- und Hitzeresistenz*

**Ölbaum.** Bis in den Juni hinein bleibt der Frühjahrstrieb so zart und wasserreich, daß die Vertrocknungsgefahr und die Empfindlichkeit gegenüber mechanischer Beschädigung den Transport und die Untersuchung der Zweige ausschließen. Erst

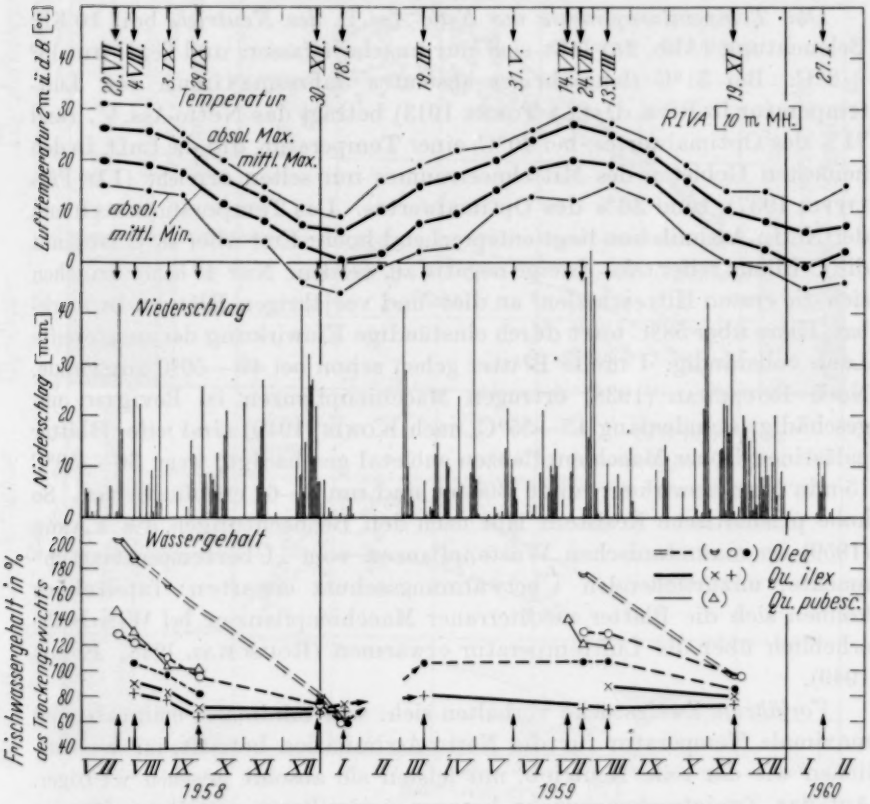



Abb. 1. Übersicht über Witterungsverhältnisse und Wassergehalt der Proben im Versuchszeitraum Juli 1958 bis Januar 1960. Am oberen Rand der Figur sind die Probenentnahmetage für die einzelnen Versuchstermine markiert. Darunter absolute (dünne Linien) und mittlere (dicke Linien) monatliche Extreme der 2 m Lufttemperatur und Niederschlag in Riva (70 m MH) nach Aufzeichnungen des Wetterbeobachters A. PERINI. Im unteren Teil der Figur Mittelwerte des Frischwassergehalts der Blätter vor Sonnenaufgang. *Olea:* Unterbrochene kräftige Linie; Sicheln: diesjährig unreif; offene Kreise: diesjährig reif; Punkte: vorjährig. *Quercus ilex:* Kräftig ausgezogene Linie, liegende Kreuze: diesjährig; stehende Kreuze: vorjährig. *Quercus pubescens:* Dünn ausgezogene Linie und Dreiecke

ab Mitte Juli ist der Neuzuwachs genügend reif und derb. In diese Zeit fallen die Termine der Sommerentnahme von 1958 (22. 7. und 4. 8.) und 1959 (24. 7.). Über Witterungscharakter und Wasserzustand der Proben zu den einzelnen Terminen gibt Abb. 1 Auskunft. — *Im ersten Jahr* waren der Probenentnahme einige heftige

Gewitterregen vorausgegangen, das reife Laub hatte saftiges, dunkelgrünes Aussehen, es war entsprechend wasserreich und der osmotische Wert der Blätter hielt sich auf dem Jahresminimalbetrag (28 at)[1]. Im zweiten Versuchsjahr gingen dem Entnahmetag 9 heiße, regenlose Tage voran. *Solanum nigrum* und *Amaranthus hybridus*, die häufigsten Unkräuter auf den gepflügten Streifen unter den Ölbäumen, ließen schon am Morgen vor Sonnenaufgang ihre Blätter welk herabhängen. *Chenopodium album*, dessen Wurzeln bis 30 cm tief in den Boden eindringen, spürte weniger den Wassermangel. Den Bäumen war von der Trockenheit nichts anzumerken. Wassergehalt und osmotischer Wert (30 at) glichen ziemlich den Beträgen des Vorjahres.

Das *Temperaturoptimum des Netto-Ass. V. des Neutriebs* bei 10 Klx Beleuchtung (Abb. 2a) läßt sich nur unscharf fassen und liegt um 18° ±2°C. Bei 31°C (langjähriges absolutes Jahresmaximum der Lufttemperatur in Riva, DALLA TORRE 1913) beträgt das Netto-Ass.V. rund 71% des Optimalwertes, bei 40°C, einer Temperatur, die die Luft in den heißesten Gebieten des Mittelmeerraumes nur selten erreicht (DE PHILIPPIS 1937), rund 36% des Optimalwertes. Das Temperaturmaximum der Netto-Assimilation liegt entsprechend hoch: Erst über 48°C beginnt die C-Bilanz reifer *Olea*-Zweige negativ zu werden. Nur 4° höher machen sich die ersten Hitzeschäden[2] an dies- und vorjährigen Blättern bemerkbar, Hitze über 58°C tötet durch einstündige Einwirkung das ausgereifte Laub vollständig. Unreife Blätter gehen schon bei 49—50°C zugrunde. Nach ROUSCHAL (1938) ertrugen Macchienpflanzen in Rovigno ungeschädigt stundenlang 45—55°C, nach KONIS (1949) sind reife Blätter palästinensischer Macchienpflanzen subletal geschädigt, wenn 56—59°C 15 min lang einwirken; junge Blätter sind um 3—6° empfindlicher. So hohe plasmatische Resistenz läßt nach den Beobachtungen, die LANGE (1959) an mauretanischen Wüstenpflanzen vom „Übertemperaturtyp" machte, unzureichenden Überwärmungsschutz erwarten: Tatsächlich können sich die Blätter mediterraner Macchienpflanzen bei Windstille erheblich über die Lufttemperatur erwärmen (ROUSCHAL 1938, KONIS 1949).

*Vorjährige* Zweigstücke verhalten sich, was minimale, optimale und maximale Temperatur für die Netto-Assimilation betrifft, im wesentlichen wie der reife Neutrieb, nur leisten sie absolut gesehen weniger. Auf das Zweigtrockengewicht bezogen assimilieren vorjährige Zweige um 20—22% weniger; wird auf die Blattfläche bezogen, entfällt also der Fehler, der sich bei Bezug verschiedener Altersklassen auf das Trockengewicht aus dem ungleich großen Anteil an unproduktiver Trockensubstanz ergibt, so verringert sich der Leistungsabfall auf 5%.

Eine mäßige Dürreperiode im Nachsommer 1958 (Entnahme: 29. 9.; in den 4 Wochen vorher nur 34 mm Niederschlag) blieb ohne nachhaltige

[1] Kryoskopisch bestimmt nach WALTER (1931a, b).

[2] Hitzeeinwirkung 60 min, Methodik sonst wie LANGE (1959).

Wirkung auf die Höhe der Assimilationsintensität der wiederaufgesättigten Blätter. Die Meßwerte (Abb. 2a, Marken mit Längsstrich) ordnen sich in die Sommerhauptkurve zwanglos ein, sogar jene, die nach nur 12 Std langem Einfrischen der sichtlich welken Zweige erhoben wurden

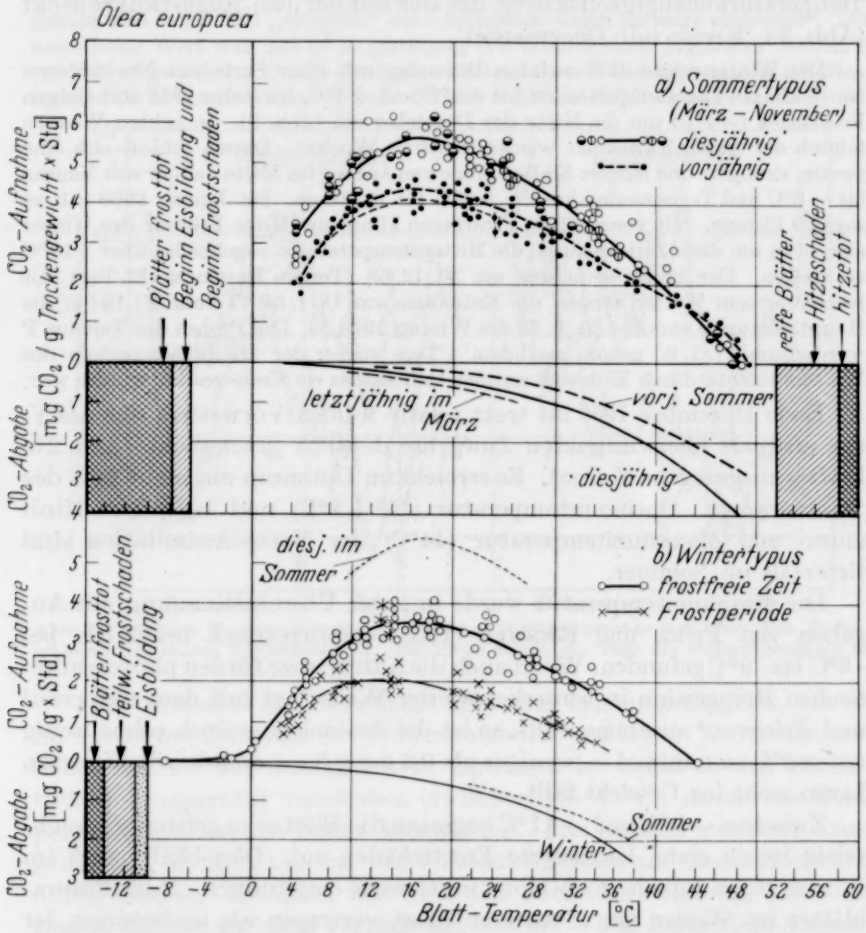



Abb. 2a u. b. *Olea europaea.* Temperaturabhängigkeit von Netto-Assimilationsvermögen und Atmung der Sprosse, Beginn der Eisbildung in den Blättern, Kälte- und Hitzeresistenz (60 min Hitzeeinwirkung). a *Versuchstermine März bis November.* Diesjähriger Zuwachs: Offene Kreise: Termine Juli, August; Kreismarken mit Längsstrich: Ende September 1958 nach kurzer Trockenperiode; Kreise mit dunkler unterer Hälfte: November 1959. Vorjähriger Zuwachs: Punkte. Kräftige unterbrochene Linie: Juli bis September; dünne unterbrochene Linie: März. Marken mit Längsstrich: September 1958. b *Winterversuchstermine:* Alles diesjähriger Zuwachs. Kreise: Termine Dezember 1958 (E) und Januar 1960 (P); vor der Probenentnahme herrschte frostfreies Wetter. Liegende Kreuze: Termin Januar 1959 (F); Probenentnahme während einer Serie von Frosttagen. Sterne (bei 13 °C): Proben des Termins F nach 5tägiger Enthärtung bei + 15 °C. Die Punktkurven deuten die Temperaturabhängigkeit der Assimilation und Atmung reifer diesjähriger Zweige im Sommer an. Versuchsbedingungen: Beleuchtung: 10 Klx, $CO_2$-Angebot: 0,033 bis 0,035 Vol.-%, Wasserzustand optimal: 4—8 % Defizit vom Sättigungsgewicht

Hohes Ass.V. wird bis in den späten Herbst eingehalten, offenbar ein Charakteristikum der — mediterranen wie der nordischen — Immergrünen (CARTELLIERI 1935, PISEK und WINKLER 1958). Eine Versuchsserie nach dem 19. 11. 59, mitten in der Hauptregenzeit, ergab eine Temperaturabhängigkeitskurve, die sich mit der Juli-Augustkurve deckt (Abb. 2a, Kreise mit Quermarke).

Der Winter setzte *1958* anfangs Dezember mit einer Serie von Nachtfrösten bis —4°C bei Tagestemperaturen bis +4°C und +5°C, im Jahre *1959* mit einigen Frosttagen (—1°C) um die Mitte des Dezember ein (Abb. 3). In beiden Wintern folgten der ersten Kältewelle wieder frostfreie Wochen. Diesen schloß sich eine zweite, strengere und längere Kälteperiode von Anfang bis Mitte Januar mit Minima bis —6°C und Tagesmaxima unter +3°C bis +5°C an. Im Januar 1960 gab es sogar 3 Eistage. Mit vereinzelten Frosttagen klingt um Mitte Februar der Winter aus; etwa um diese Zeit beginnen die Mittagstemperaturen regelmäßig über +10°C zu steigen. Der Probenentnahme am 30. 12. 58 (Termin E) gingen 17 Tage mit feuchtwarmem Wetter voraus, die Entnahme am 18. 1. 59 (Termin F) fiel in die Hauptkältewelle vom 6.—20. 1. 59 des Winters 1958/59. Die Proben des Termins P wurden am 27. 1. 60 geholt, nachdem 4 Tage vorher der Hauptkälteperiode des Winters 1959/60 durch Einbruch warmer Luftmassen ein Ende gesetzt worden war.

Ende Dezember 1958 ist trotz relativ milden Vorwetters das Ass.V. der erstmals überwinternden Zuwächse deutlich geschwächt (Abb. 2b, kräftig ausgezogene Kurve). Es erreicht im Optimum nur mehr 64% des Sommerwerts. Optimumtemperatur (16°±2°C) und besonders Minimum- und Maximumtemperatur (44°C) der Netto-Assimilation sind tiefer als im Sommer.

Die Minimumtemperatur wurde in guter Übereinstimmung mit Angaben von PISEK und REHNER (1958) colorimetrisch bei 3 Klx bei −8°C bis −9°C gefunden. Wenn auch die Kältegrenze für den photosynthetischen Reingewinn in bemerkenswerter Weise fast mit dem *Ge*frieren[1] und *Er*frieren[2] zusammenfällt, so ist die Assimilation doch schon wenig unter 0°C so minimal — weniger als 0,2 mg/g.h —, daß der Stoffgewinn kaum mehr ins Gewicht fällt.

Zwischen —9°C und —11°C beginnen die Blätter zu gefrieren; gleichzeitig treten erste, lokalisierte Frostschäden auf. *Olea* bleibt auch im Winter gegen jegliche Eisbildung im Gewebe empfindlich. Daß Ölbaumblätter im Winter um 4° tieferen Frost vertragen als im Sommer, ist also nicht auf den Erwerb einer *Frost*härte s.str. zurückzuführen, sondern auf Veränderungen, die die Eisbildung verzögern. Die Zunahme des osmotischen Wertes vom Sommer (rund 30 at) zum Winter (rund 40 at) kann diese Gefrierpunktsdepression nur zum Teil erklären.

Der oben besprochene Verlauf der Temperatur-Assimilationskurve scheint für die frostfreie Zeit des Winters charakteristisch zu sein.

[1] Höchste Temperatur, bei der Freiwerden von Erstarrungswärme eben nachweisbar ist.

[2] Erstes Auftreten von Frostschäden.

Aufeinanderfolgende Nachfröste indessen setzen das Ass.V. weiter herab. Das zeigte sich im Termin F (Abb. 2b, dünne Kurve).

Die Proben wurden noch vor Abschluß der Frostperiode entnommen. Der Boden unter den Ölbäumen war stellenweise bis 5 cm tief gefroren, darunter krümelig und feucht. Die *Olea*-Blätter hatten ihre satte, dunkelgrüne Farbe eingebüßt und sahen fahl „olivgrün" aus. Außerdem waren sie stark eingerollt[1]. Der osmotische Wert war auf 46 at gestiegen, der Wassergehalt gegenüber Termin E um 20% abgesunken. Um die Zweige im Zustand ihrer Kälteanpassung zu erhalten, standen sie in Innsbruck nachts bei —3°C bis —5°C im Kühlfach einer Linde-Truhe.

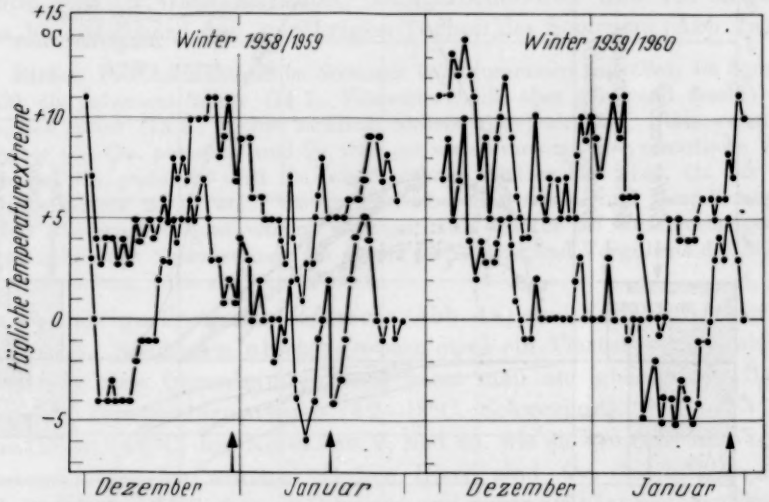



Abb. 3. Tägliche Temperaturextreme für Riva (Lufttemperatur 2 m über dem Boden) während der beiden Versuchswinter. Die Pfeile zeigen die Tage der Probenentnahme an

Jetzt erreicht *Olea* bestenfalls 58% der Leistungsfähigkeit, die sie im frostfreien Zeitraum des Winters aufwies, und nur 37% des sommerlichen Ass.V. Das äußerst flache Optimum ist weiter in den Bereich tieferer Temperatur verschoben (zwischen 10—17°C), ebenso das Temperaturmaximum der Netto-Assimilation. Ein einziger stärkerer Frost genügt im Winter, um das Ass.V. vorübergehend auf diesen Tiefstand herabzusetzen. *Künstlich* läßt sich dies leicht herbeiführen, wenn die Zweige nachts vor dem Versuch bei —5 bis —6°C kaltgestellt werden. Abkühlen auf —3°C genügt nicht. Beinahe ebenso rasch wird die Lähmung der Photosynthese aufgehoben, wenn die Nachtfröste ausbleiben. Schon die wenigen frostfreien Tage zwischen dem Ende der Hochwinterkälte im Januar 1960 und der Probenentnahme im Termin P (27. 1. 60) genügten, um das Ass.V. wieder auf den Stand während der frostfreien Winterzeit zu bringen. Die Kurven der Termine E und P stimmen gut überein. Im Experiment löst sich die Assimilations-

[1] Genau so verändern frischgrüne *Olea*-Blätter in wenigen Stunden ihr Aussehen, wenn man sie im Versuch unter —5°C abkühlt.

lähmung bei frostfreier Aufstellung der Zweige (+ 15° C) innerhalb von 2 Tagen teilweise; nach 5 Tagen ist der normale Winterzustand wiederhergestellt.

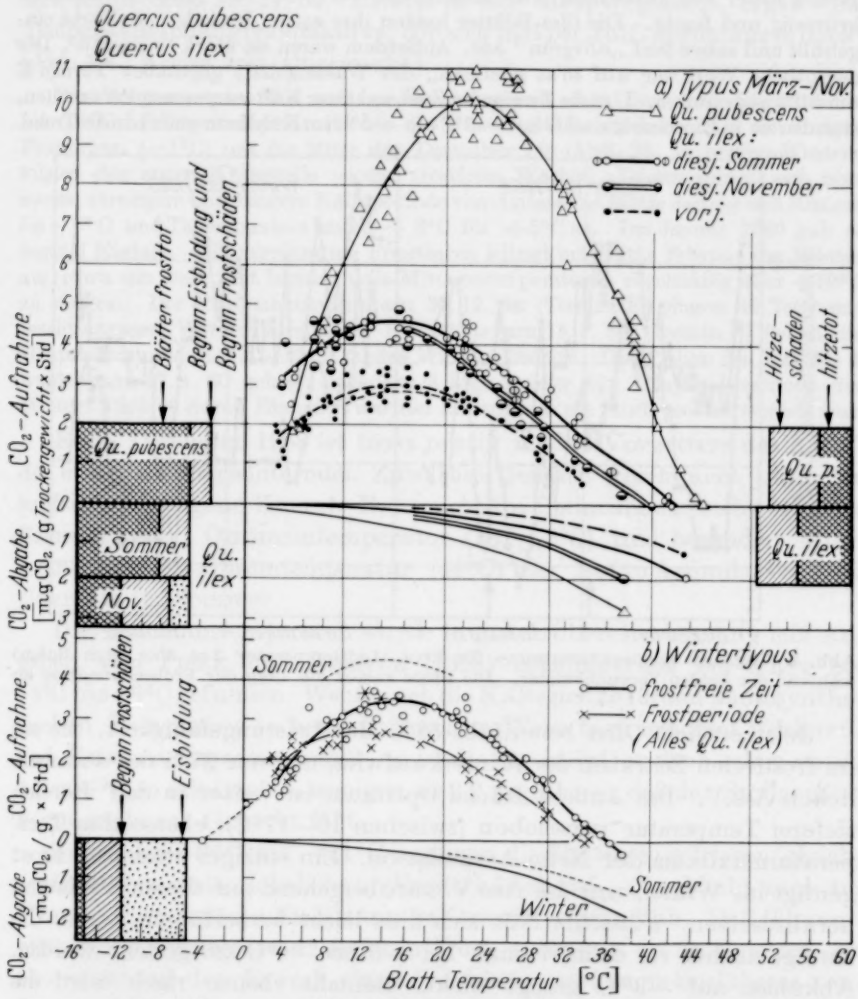



Abb. 4a u. b. *Eichen:* Temperaturabhängigkeit von Netto-Assimilationsvermögen und Atmung der Sprosse, Beginn der Eisbildung in den Blättern, Kälte- und Hitzeresistenz. a *Versuchstermine März bis November. Quercus pubescens:* Dreiecke. *Quercus ilex:* Diesjähriger Zuwachs im Sommer: Offene Kreise; Ende September 1958 nach kurzer Trockenperiode: Kreise mit Längsmarke; November 1959: Doppellinie, Kreise mit dunkler unterer Hälfte. Vorjähriger Zuwachs: Punkte. Kräftige unterbrochene Linie: Juli bis September; dünne unterbrochene Linie: März. b *Winterversuchstermine.* Alles diesjähriger Zuwachs von *Quercus ilex.* Kreise: Frostfreie Termine Dezember 1958 (E) und Januar 1960 (P). Liegende Kreuze: Frostperiode Januar 1959 (F). Sterne: Enthärtungsversuche. Die Punktkurven geben den Sommerzustand wieder. Versuchsbedingungen: Beleuchtung: 10 Klx, $CO_2$-Angebot: 0,033—0,035 Vol.-%, Wasserzustand optimal: bei *Quercus pubescens* 4—7 % Defizit, bei *Quercus ilex* 4—9 % Defizit vom Sättigungsgewicht

So hohes Ass.V., wie es der Neuzuwachs vor seiner ersten Überwinterung bis in den November hinein aufrechterhalten kann, wird später nie wieder erreicht. Im *März*, wenn der Winter endgültig vorüber ist, die Mittagstemperaturen regelmäßig auf 15°C steigen und die Morgentemperaturen selten unter +5 bis +6°C sinken, ist der Zuwachs des letzten Sommers physiologisch zum „vorjährigen" Zuwachs gealtert. Zwar bildet er bis anfangs April noch das Sproßende, doch gleicht er schon jetzt in Wasserkapazität, Hartlaubcharakter und vor allem im Ass.V. weitgehend den vorjährigen Trieben des Sommers (Abb. 2a).

**Eichen.** Probenentnahme im Sommer 1958 zusammen mit *Olea*, im Sommer 1959 *Qu. pubescens* früher (14. 7., Vorwetter heiß, aber genügend feucht) und *Qu. ilex* später (13. 8., vorher reichlich Niederschläge) als *Olea*. Stets waren die Blätter von *Qu. pubescens* und *Qu. ilex* gut wasserversorgt, der osmotische Wert minimal (*Qu. pubescens* und *Qu. ilex* diesjährige Blätter 17—20 at, *Qu. ilex* vorjährige Blätter 22—25 at). Von *Qu. pubescens* sind Ass.V. und Resp.V. nur an reifen Blättern bestimmt worden. Junges Laub war für die Untersuchungen zu empfindlich, die Veränderungen im Laufe des Alterns und Vergilbens der Blätter zu untersuchen, hätte zu weit geführt.

*Dies*jährige Triebe der *Steineiche* (Abb. 4a) sind Ende Juli schon gut ausgereift. Sie leisten absolut gesehen etwa ein Viertel weniger als die Neutriebe des Olivenbaums, auch wenn man auf gleiche Oberfläche bezieht. Temperaturoptimum (12—18°C, Schwerpunkt bei 15°C) und -maximum (42°C) des Netto-Ass.V. sind so, wie sie bei *Olea* im Winterzustand gefunden werden. Gegen Hitze sind *Qu. ilex*-Blätter eben erkennbar empfindlicher als Ölbaum- und sogar als Flaumeichenblätter.

Die *vor*jährigen Triebe arbeiten wie jene von *Olea* schlechter als der Neuzuwachs, der Unterschied zwischen den beiden Altersstufen ist bei der Eiche größer. Bei Bezug auf das Zweigtrockengewicht leisten die alten *Qu. ilex*-Blätter im Optimumbereich um 33%, bei Bezug auf die Oberfläche um 18% weniger als junge Blätter. Dies ist ein Hinweis darauf, daß die Blätter der Steineiche rascher altern als die Ölbaumblätter. Tatsächlich werden sie auch i.d.R. um eine Vegetationsperiode früher abgestoßen als die Blätter des Ölbaums. Der Leistungsabfall von diesjährigen zu vorjährigen Blättern ist übrigens bei beiden Sklerophyllen viel steiler als bei den von Freeland (1952), Polster (1955), Clark (1956), Pisek und Winkler (1958) untersuchten Coniferen, deren Nadeln ein höheres Lebensalter erreichen als die Blätter der beiden Sklerophyllen.

Die Temperaturabhängigkeitskurve des Ass.V. der *Flaumeiche* (Abb. 4a) weicht auffallend von den entsprechenden Kurven der beiden immergrünen Arten ab: Ihr ausgeprägtes *Optimum* liegt verhältnismäßig hoch, bei 23° ± 1°C, ihre Maximumtemperatur bei 45°C.

Im November deutet sich bei der *Steineiche* über 16°C eine fallende Tendenz im Netto-Ass.V. an (Abb. 1a, Doppellinie). Das Optimum

kommt dadurch um einen Schwerpunkt bei 14°C zu liegen und ist deutlicher ausgeprägt als im Sommer, das Maximum sinkt auf 40°C. Ursache für die Schwächung des Ass.V. im Bereich über 16°C ist die schon im November höhere Respirationsintensität. Die Brutto-Assimilation[1] im November entspricht auch im Kurvenast oberhalb 16°C völlig der sommerlichen Brutto-Assimilation.

Wie bei *Olea*, doch weniger ausgiebig, ist das Ass.V. bei *Qu. ilex* im Winter (dieselben Entnahmetage wie für *Olea*) gedrosselt. Im Optimumbereich, der in der frostfreien Winterzeit (Abb. 4b, kräftig ausgezogene Kurve) recht flach um 14°C als Schwerpunkt liegt, wird 78% (*Olea* 64%) so viel assimiliert wie im Sommer bei gleicher Temperatur. Erst während einer längeren Frostperiode (Abb. 4b, dünn ausgezogene Kurve) sinkt das Ass.V. im Optimum, das dann auf 11°C verschoben ist, auf 60% des Sommerhöchstwertes bzw. 77% des normalen Winteroptimalwertes (*Olea* 37 bzw. 58%). Das Temperaturmaximum der Netto-Assimilation wandert von 42°C im Sommer über 40°C Mitte November auf 36°C (Termine E, P) bis 34°C (Termin F) im Winter. Experimentell kann man es schon im November durch einmaliges nächtliches Abkühlen der Zweige auf —5°C bis —6°C auf 36°C herabsetzen. Nachtfrostfreie Aufstellung der Zweige bei + 15°C zeitigt ähnliche Reorganisation der Photosynthese wie bei *Olea*.

Ganz anders als *Olea* verhalten sich die Blätter der Steineiche unter 0°C: Wie im Sommer wird auch jetzt nur bis —4°C mit Überschuß assimiliert, darunter überwiegt die $CO_2$-Ausscheidung. Zwischen —5°C und —6°C ist Freiwerden von Kristallisationswärme einwandfrei nachweisbar. Offenbar steht — außer bei gewissen besonders empfindlichen Pflanzen tropischer Herkunft, die sich schon einige Grad über Null erkälten — ganz allgemein das erste Auftreten von Eis im Gewebe mit dem Temperaturminimum der Netto-Assimilation in ursächlichem Zusammenhang. Erste Nekrosen stellen sich bei *Qu. ilex* erst nach Abkühlen unter —12°C ein und die Blätter erfrieren erst unter —16°C zur Gänze. *Qu. ilex* erweist sich dadurch im Gegensatz zu *Olea* als wenigstens begrenzt eisbeständig, die Zunahme seiner Kälteresistenz vom Sommer zum Winter ist auf den Erwerb einer echten *Frost*härte zurückzuführen. Der Jahresgang von Wassergehalt und osmotischem Wert steht bei *Qu. ilex* in keiner eindeutigen Beziehung zum Jahresgang der Kälteresistenz.

Sobald der jüngste Blattjahrgang seine erste Überwinterung durchgemacht hat, bleibt die Leistung der nun „vorjährigen" Triebe bei *Qu. ilex* fortan gering.

---

[1] Summe Netto-Assimilation + Dunkelatmung.

### 2. *Lichtabhängigkeit der Netto-Assimilation und Kompensationsbeleuchtungsstärke im Sommer und Winter*

Im Sommer und Winter wurde regelmäßig auch die Lichtabhängigkeit des Ass.V. bei einigen ökologisch interessanten Temperaturen untersucht: Bei 13°C entsprechend der Jahresmitteltemperatur von Riva (12,9°C) und bei 22°C (Mitteltemperatur der Sommermonate 21,9°C), außerdem im Sommer bei 30°C (mittleres absolutes Temperaturmaximum 30,5°C) und im Winter bei + 6°C (14-Uhr-Temperaturmittel Dezember 6,6°C, Januar 5,6°C). Bei 49 Klx kann die Temperatur der

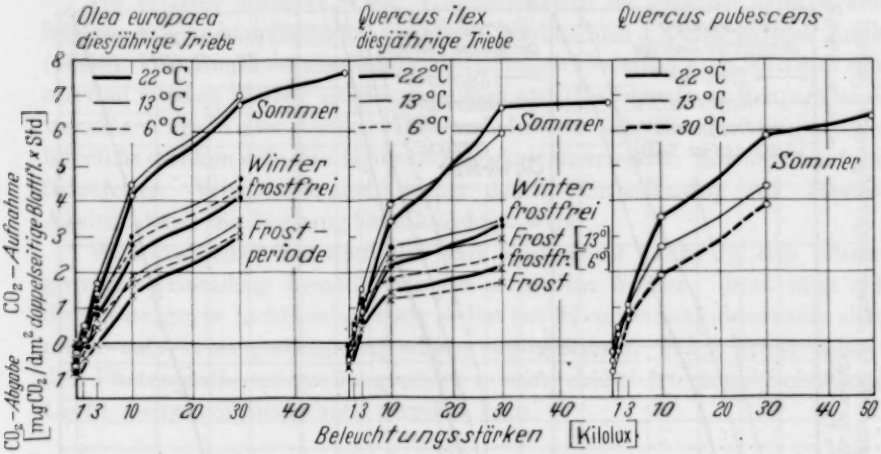



Abb. 5. Lichtabhängigkeit der Netto-Assimilation diesjähriger Zweige von *Olea europaea*, *Quercus ilex* und *Quercus pubescens* bei 6, 13, 22 und 30°C. Kreise: Sommer; Punkte: Winter, frostfreies Vorwetter; liegende Kreuze: Winter Hauptfrostperiode. Die Werte sind Mittelwerte aus je 8—16 Einzelbestimmungen, maximale Abweichung vom Mittelwert ± 7 %. Bei Beleuchtungsstärke Null ist die Dunkelatmung eingetragen (Mittelwerte)

Proben nur über 22°C konstant gehalten werden, deshalb liegen für diese Beleuchtungsstärke nur 22°C-Meßwerte vor.

Die Ergebnisse sind in Abb. 5 dargestellt. Im wesentlichen wiederholen sich die aus der Literatur (vgl. referierende Bearbeitung von GABRIELSEN 1960) hinlänglich bekannten Tatsachen: Steile Anfangssteigung bis gegen 10 Klx, darüber schlechtere Lichtausnützung; Lichtsättigung: *Qu. ilex* nahe 49 Klx, *Qu. pubescens* und *Olea* über 49 Klx. Daß schwache Beleuchtung bei niedrigen Temperaturen, starke Beleuchtung bei hohen Temperaturen besser ausgenützt wird, kommt nur bei *Qu. ilex* klar zum Ausdruck.

Die im Winter verminderte Leistungsfähigkeit des Photosyntheseapparates zeigt sich erwartungsgemäß auch in den Lichtabhängigkeitskurven. Die Umstellung vom Sommer- zum Winterzustand wirkt sich dahin aus, daß die Pflanzen in der kalten Jahreszeit *starkes Licht viel schlechter ausnützen* als im Sommer, wogegen im Bereich schwachen Lichtes die Kurve im Sommer und im frostfreien Winterzeitraum ziemlich

gleich steil ansteigt. Nur unmittelbar vorausgegangener Frost hemmt auch zwischen 3 und 10 Klx die Assimilation sehr merkbar. — In der milden Wintersaison binden die *Olea*-Blätter bei 30 Klx etwa gleichviel $CO_2$ wie im Sommer bei 10 Klx, während einer Kältewelle bei 10 Klx so wenig wie im Sommer bei nur 3 Klx. Das Ass.V. von *Qu. ilex* ist im Schwachlichtbereich etwas weniger frostempfindlich; dafür wird die Steineiche im Starklicht besonders bei höherer Temperatur leistungsschwach.

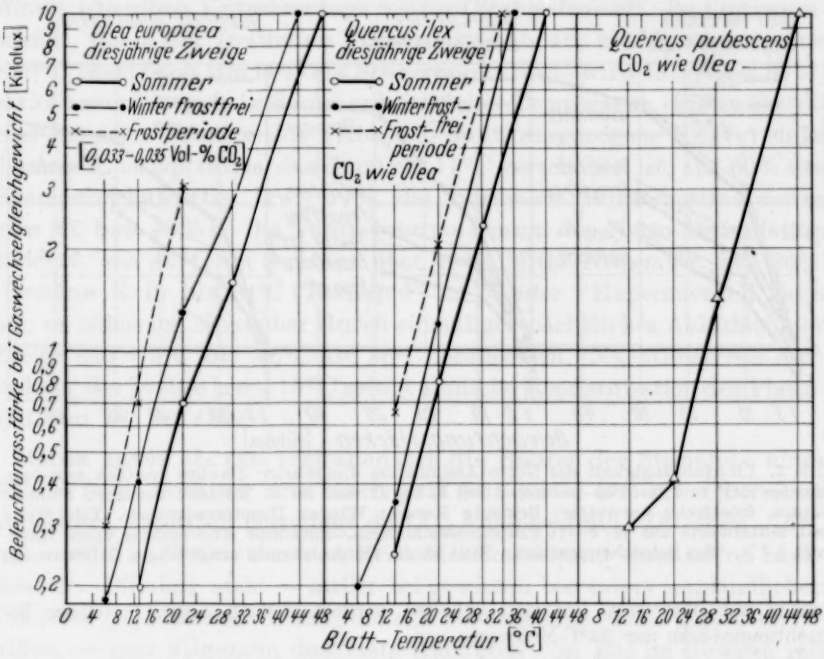



Abb. 6. Kompensationsbeleuchtungsstärke als Funktion der Temperatur im Sommer und Winter. Ordinate: Beleuchtungsstärke in Klx auf logarithmischer Skala. Abszisse: Temperatur auf Linearskala. Sommer: Kräftig ausgezogene Linie; Winter, frostfreier Zeitraum: dünn ausgezogene Linie; Winter, Hauptfrostperiode: unterbrochene Linie. Kompensationsbeleuchtungsstärke auf Grund von URAS-Meßreihen graphisch ermittelt

*Kompensationslicht.* Die Mindestbeleuchtung, bei der Photosynthese und Atmung einander die Waage halten, ist, abgesehen von der spezifischen photosynthetischen Leistungsfähigkeit, im wesentlichen durch die Atmungsintensität bestimmt (MÜLLER 1928, BOYSEN-JENSEN 1932). So nimmt mit steigender Temperatur infolge steigender Atmung auch der Lichtbedarf als Exponentialfunktion zu (s. Abb. 6, vgl. außerdem LIETH 1960a, b und die zusammenfassende Darstellung bei EGLE 1960).

Bei 13°C genügen im Sommer allen 3 Arten schon 0,2—0,3 Klx zur Kompensation der Atmung. LIETH (1960a) gibt für *Olea* (Gewächshausexemplar) bei 13°C auf Grund eudiometrischer Bestimmungen ebenfalls

0,2 Klx als Kompensationslicht an. Bei 22°C bedarf es doppelt *(Qu. pubescens)* bis viermal *(Qu. ilex)* so starker Beleuchtung. Nach dem Überschreiten des für die Assimilation optimalen Temperaturbereichs steigt auch der Lichtbedarf für die Kompensation mit zunehmender Temperatur immer rascher an, so daß im Sommer 1—3 Klx zur Kompensation der Atmung bei 30°C eben ausreichen. Zur Kompensation der erheblichen Atmung bei 42°C *(Qu. ilex)* bis 48°C *(Olea)* sind schon 10 Klx nötig.

Im Winter braucht es zur Kompensation bei gleicher Temperatur höhere Beleuchtungsstärke. Dasselbe beobachten Pavletić und Lieth (1958). Die Zunahme des Kompensationslichtbedarfes vom Sommer zum normal milden Winter ist ausschließlich auf das lebhaftere Respirationsvermögen im Winter zurückzuführen[1]. In der Nähe des Kompensationsbereichs decken sich die Lichtabhängigkeitskurven für Sommer und den frostfreien Winterzeitraum, wenn durch Umrechnung auf Brutto-Assimilation die Atmung berücksichtigt wird.

Während einer Frostperiode wird noch mehr Licht für die Gleichgewichtseinstellung benötigt als im normalen Winter. Jetzt läßt sich der gesteigerte Lichtbedarf aber selbst im Kompensationsbereich nicht mehr auf Atmungssteigerung allein zurückführen. Nach Frost scheint der Photosyntheseprozeß so gestört zu sein, daß nicht einmal schwaches Licht mehr voll ausgenützt werden kann.

## II. Das Respirationsvermögen

Die Atmung der Zweige wurde im verdunkelten Rezipienten gemessen. Sie nimmt bei *Olea* von 10—20°C auf das etwa 2,8fache, darüber bis 40°C pro 10° auf das etwa 2,2fache zu. Für *Qu. ilex* gelten zwischen 10° und 40°C Koeffizienten $Q_{10} = 2{,}3$ bis 2,1, für *Qu. pubescens* 2,1—1,75. Die Zweige der sommergrünen Flaumeiche atmen je Trockengewichtseinheit bei Temperaturen bis 20°C rund dreimal, von 30—40°C etwas mehr als doppelt so viel wie gleich alte Zweige der Steineiche. Insofern geht *Qu. pubescens* bei hohen Temperaturen sparsamer mit ihrem Atmungsmaterial um als *Qu. ilex*. Es weist also die Temperaturabhängigkeitskurve der Atmung ebenso wie jene des Netto-Ass.V. darauf hin, daß der C-Stoffwechsel der hitzeresistenteren Flaumeiche an hohe Temperatur besser angepaßt ist als der Stoffwechsel der Steineiche.

Mit fortschreitendem *Alter* wird die Respiration immer schwächer. Voll ausgereifte heurige Triebe von *Olea* atmen etwa halb so stark wie die unreifen Sprosse (Abb. 7), wobei zwischen weichen grünen Achsen und Blättern kaum ein Unterschied besteht (Abb. 8). Auf den regen Atmungsstoffwechsel während der Laubentfaltung haben schon Willstätter und Stoll (1918) hingewiesen. Richardson (1957) unter-

[1] Näheres über Atmung im Sommer und Winter s. S. 592.

suchte ihn an Sämlingen sommergrüner Holzarten: Junge, 4—6 Tage alte Blätter von *Quercus robur* atmen je Flächeneinheit bei 24°C 1,9mal und halb ausgewachsene 8—10 Tage alte Blätter 1,5mal so stark wie 2—3 Wochen alte, reife Blätter. Vorjährige *Olea*- und *Qu. ilex*-Zweige atmen schließlich im Durchschnitt um 40% schwächer als reifer Neuzuwachs.

Überdies ändert sich das Resp.V. noch mit der *Jahreszeit*. Vom Sommer bis in den Spätherbst — bei *Olea* auch noch Ende November und vielleicht bis zum ersten Nachtfrost — zeichnen sich die beiden Immer-

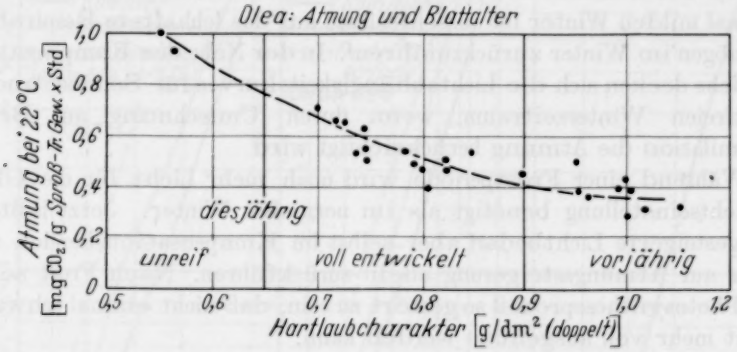



Abb. 7. Schwächung des Respirationsvermögens während der Reifung und Alterung von Ölbaumzweigen. Dunkelatmung im Sommer bei 20°C. Als Maßstab für den Reife- bzw. Alterungsgrad der Proben dient der Hartlaubcharakter der Blätter. Hartlaubcharakter für reife diesjährige *Olea*-Blätter im Sommer im Mittel etwa 0,8 g Blatt-Trockengewicht/dm² doppelte Blattfläche, für vorjährige *Olea*-Blätter etwa 1,0 g/dm²

grünen durch besonders schwache Atmung aus (Abb. 8). Im Winter — bei *Qu. ilex* bemerkenswerterweise schon Mitte November vor dem ersten Frost — ist das Resp.V. auf höherem Niveau. Die Winteratmung des letzten Sproßjahrganges beider Arten beträgt im Mittel das 1,3 bis 1,5fache der Sommeratmung des reifen Neutriebes. Der Unterschied ist gesichert, er kommt auch dann noch klar zum Ausdruck, wenn die maximale Streuung aller Einzelwerte der Sommer- und Winterversuche zum Vergleich herangezogen wird. Über 16—18°C liegen die niedrigsten Winteratmungswerte höher als die höchsten Sommeratmungswerte.

Entblätterte Sproß*achsen* atmen etwas schwächer als belaubte Sprosse, im Winter aber ebenso wie diese mehr als im Sommer. Auf die höhere Winteratmung von Zweigachsen des Ölbaums macht auch BOLLI (1949) aufmerksam, der manometrisch im Februar bei 12,8°C kräftigere Atmung maß als im Mai (17,2°C), August (23,4°C) und November (16°C).

Auf hohem Resp.V. befinden sich beide Arten noch Ende März, wenn der Winter längst zu Ende ist und die Blätter und Achsen prall mit

Stärke gefüllt sind, was darauf hinweist, daß die Assimilation schon seit einiger Zeit wieder auf vollen Touren läuft.

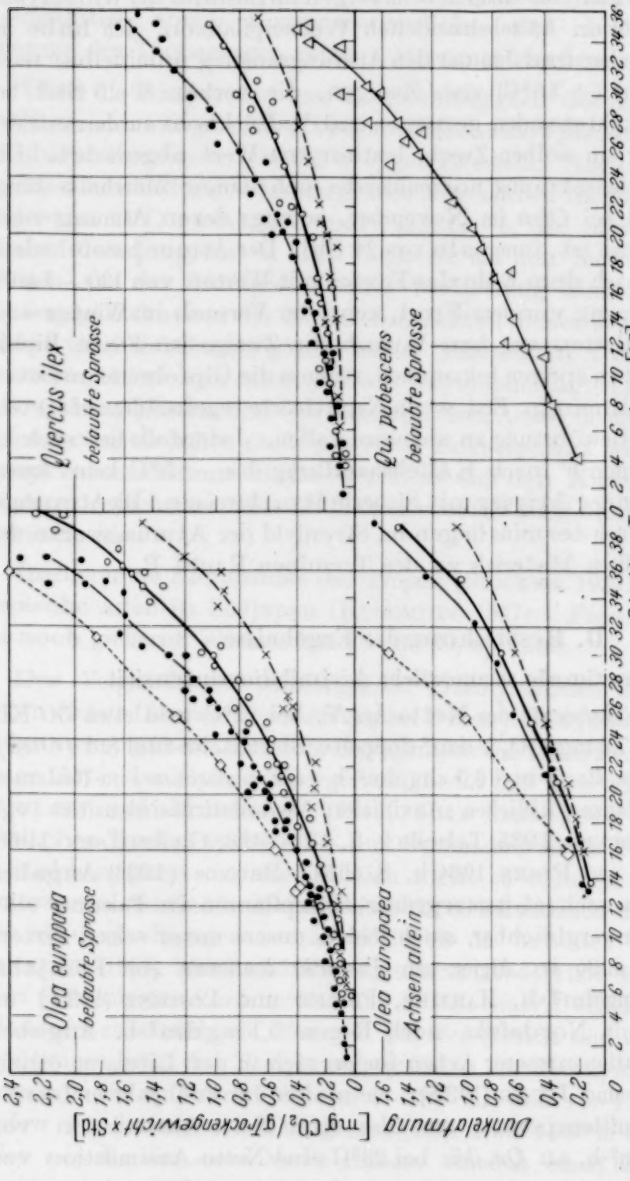



Abb. 8. Respiration beblätterter Sprosse von *Olea europaea*, *Quercus ilex* und *Quercus pubescens* im Sommer und Winter. Von *Olea* außerdem Atmung der Achsen allein. Punktierte Kurve und Viereckе: unreife diesjährige Triebe im Sommer; dick ausgezogene Kurven und Kreise *(Olea, Qu. ilex)* oder Dreiecke *(Qu. pubescens)*: Sommeratmung reifer diesjähriger Proben; unterbrochen gezeichnete Kurven, liegende Kreuze: Sommeratmung vorjähriger Proben; dünn ausgezogene Kurven und Punkte: Atmung reifer diesjähriger Triebe von November *(Qu. ilex)* bzw. Dezember *(Olea)* bis einschließlich März. Die Marken sind Mittelwerte aus je 4—6 Einzelbestimmungen. Maximale Abweichung der Einzelwerte: ± 1,2 % vom jeweiligen Mittelwert

*Nach Frost* wird die Atmungsintensität noch zusätzlich — wenn auch nur kurzzeitig — gesteigert. Erstmals dürfte Ewart (1896) diesen fieberhaften Anstieg der Atmung an Wintergrünen beobachtet haben.

TRANQUILLINI (1957) konnte ihn am Standort am Morgen nach Frostnächten mehrmals messen, PISEK und WINKLER (1958) fanden ihn nach Warmstellen von Fichten- und Zirbenzweigen im Zustand der Winterruhe und HEBER (1959) an kältebehandelten Weizenpflanzen. Ich habe im November, Dezember und Januar den Atmungsanstieg unmittelbar nach dem Warmstellen (+15°C) von Zweigen, die vorher 8—10 Std bei —5°C bis —6°C kühl standen, gemessen und die Rückkehr auf den vor der Kältebehandlung am selben Zweig bestimmten Wert abgewartet. Die überhöhte Reaktionsatmung normalisierte sich immer innerhalb längstens 12 Std und bei *Olea* im November, solange deren Atmung noch sommerlich schwach ist, innerhalb von 24 Std. Der Atmungsstoß kulminierte 3—6 Std nach dem Ende des Frostes mit Werten von 130—140% der normalen Atmung vor dem Frost, wenn der Versuch im Winter ausgeführt wurde. Hatten vor dem Versuch die Zweige im Freien bisher noch keinen Frost zu spüren bekommen, stiegen die Gipfelwerte auf etwa 170% der Normalatmung. Erst wenn Nachtfröste regelmäßig auftreten, scheint sich eine Gewöhnung an sie einzustellen. Jedenfalls ließ sich an Material im Termin F nach Kältebehandlung bis —5°C kein kurzfristiges Ansteigen der Atmung mit Sicherheit nachweisen. Die Atmungswerte dieses Versuchstermins liegen im Streufeld der Atmungswerte des frostfrei aufgestellten Materials zu den Terminen E und P.

## D. Besprechung der Ergebnisse

### I. Die maximale sommerliche Assimilationsintensität

Die *Sommerhöchstwerte* des Netto-Ass.V. bei 22°C und etwa 50 Klx bleiben mit rund 7,8 mg $CO_2$ je $dm^2$ doppelte Blattfläche und Std *(Olea)*, 6,9 mg/$dm^2$·h *(Qu. ilex)* und 6,5 mg/$dm^2$·h *(Qu. pubescens)* im Rahmen der für Sonnenpflanzen üblichen maximalen Assimilationsintensität (vgl. Übersicht bei STOCKER 1935, Tabelle 9, S. 426—428, GABRIELSEN 1960, Tabelle 4, S. 48, und PISEK 1960b, S. 455). BRUNOS (1936) Angaben über den $CO_2$-Gaswechsel immergrüner Holzpflanzen in Palermo sind nicht unmittelbar vergleichbar, auch fehlen unsere unter seinen Arten. KILLIAN (1933) mißt in Algier an *Pistacia lentiscus* (im Frühjahr) maximal 7—8[1] mg/$dm^2$·h, HARDER, FILZER und LORENZ (1931) an *Nerium oleander* in Nordafrika nach Regen 5,1 mg/$dm^2$·h. Angaben über die Assimilation unserer Arten finden sich in der Literatur einzig bei GUTTENBERG und BUHR (1935). Sie maßen im Frühjahr in Istrien bei 18—28°C Lufttemperatur an *Olea* eine Netto-Assimilation von maximal 4 mg/$dm^2$·h, an *Qu. ilex* bei 26°C eine Netto-Assimilation von

[1] Im Interesse des leichteren Vergleichs wurden die Originalangaben der einzelnen Autoren durchgehend auf $dm^2$ doppelseitige Oberfläche umgerechnet, wenn sie nicht schon so angegeben waren.

3,3 mg/dm²·h. Im Sommer wurde auf Korsika einmal am frühen Morgen gleich hohe, sonst wegen des Spaltenschlusses immer geringere $CO_2$-Aufnahme gefunden. Temperaturoptimum und -maximum der Assimilation sowie Kompensationslicht- und Lichtsättigungswerte können den Tagesgängen nicht entnommen werden.

Über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit des Ass.V. von mit den Mediterranen einigermaßen vergleichbaren *subtropischen* Bäumen wissen wir durch KUSOMOTO (1957a, b, c) gut Bescheid. Alle 12 von ihm untersuchten breitblättrigen Immergrünen assimilieren im Sommer bei 40 Klx und etwa 25°C zwischen 5 und 7 mg/dm²·h, die immergrüne *Quercus glauca* etwa 6 mg/dm²·h. Im Vergleich mit den mediterranen Immergrünen von der Nordgrenze ihrer Verbreitung sind die Temperaturabhängigkeitskurven der Netto-Assimilation dieser südjapanischen Malakophyllen als Ganzes gegen höhere Temperatur versetzt. Das Temperaturoptimum von Arten aus dem warm-gemäßigten Klimagebiet, wie z.B. *Quercus glauca*, und von subtropischen Arten dehnt sich bei 30 Klx Beleuchtung ziemlich flach um einen Schwerpunkt bei 25°C aus. Das Temperaturmaximum dürfte, soweit es sich den Kurven durch Extrapolation entnehmen läßt, im Sommer bei 40 Klx überall um 50°C anzusetzen sein.

Immergrüne Laubbäume der *Tropen* (STOCKER 1935: Westjava) oder tropische Arten in Südjapan (KUSUMOTO 1957c: *Ficus retusa*) arbeiten bei noch größerer Wärme, bei 28—30°C, optimal.

Der Vergleich mit immergrünen Dikotyledonen aus *kälteren* Gebieten (letzte Literaturbearbeitung bei PISEK 1960a) scheitert am Mangel geeigneter Angaben. Aus den Tagesgängen von CARTELLIERI (1935) über einige Arten der alpinen Zwergstrauchheide und von WAGER (1941) und DANILOW und MIRIMAJAN (1948) über immergrüne Ericaceen der arktischen Tundra sind Grenz- und Optimalwerte für Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Assimilation nicht zu erfahren. Die höchsten gemessenen absoluten Assimilationswerte schwanken um 3 mg/dm²·h. Gut sind wir dagegen vor allem durch die Arbeiten von PISEK und WINKLER (1958, 1959) und TRANQUILLINI (1955, 1957, 1959) über Coniferen informiert. *Picea excelsa* und *Pinus cembra* vermögen bestenfalls halbsoviel zu leisten wie *Olea* und *Qu. ilex* (PISEK und WINKLER 1959). Im übrigen liegt das Temperaturoptimum der Netto-Assimilation von *Picea* aus 600 m Meereshöhe um 2—3°C und das von *Picea* und *Pinus cembra* von der alpinen Waldgrenze (hier etwa 1880 m ü.d.M.) um 5°C tiefer als das der zwei Mediterranen. Ähnlich sinkt das Temperaturmaximum von 50° ± wenige Grad C (30—40 Klx) bei tropischen, subtropischen und mediterranen Arten auf 38—40°C (30 Klx) bei den alpinen Coniferen.

Über *Qu. pubescens* fand ich im Schrifttum keine Assimilationsangaben. Auch über andere laubabwerfende Eichen ist in dieser Hinsicht nicht viel bekannt: An 8jährigen Exemplaren von *Quercus robur* mißt POLSTER (1950) an einem klaren Septembertag bei etwa 30 Klx und 20°C im Freiland maximal 4,2 mg/dm²·h; die höchste von POLSTER angegebene Assimilationsintensität dieser Art beträgt 5,7 mg/dm²·h. KRAMER und DECKER (1944) haben bei 30°C Lichtabhängigkeitskurven von eingetopften 2jährigen Sämlingen der beiden nordamerikanischen Eichen *Quercus alba* und *Qu. borealis-maxima* aufgenommen und bei 20—30 Klx Werte von 5,33 mg/dm²·h *(Qu. alba)* bis 6,04 mg/dm²·h *(Qu. borealis-maxima)* gemessen. Nach E. WINKLER (mündl.) assimilieren Sonnenblätter von *Quercus robur* aus Innsbruck bei 20—22°C und 10 Klx günstigstenfalls 6,2—6,5 mg/dm²·h.

### II. Gegenüberstellung sommergrüne — immergrüne Eiche

In Übereinstimmung mit den bekannten Tatsachen (STOCKER 1935, PISEK und KNAPP 1959, PISEK 1960b) assimiliert und atmet die sommergrüne Art kräftiger als die immergrüne, wenn auf das *Trockengewicht* bezogen wird. Das maximale Netto-Ass.V. von *Qu. pubescens*-Zweigen beträgt dann das 2,2fache, die Atmung bei 20°C das 3fache der Sommerassimilation und -atmung diesjähriger *Qu. ilex*-Zweige. Wird die Assimilation auf gleiche Oberfläche bezogen, dann verwischt sich der Unterschied, die immergrüne *Qu. ilex* leistet dann sogar eher mehr. Die 20°-Atmung der Flaumeiche ist bei Bezug auf die Oberfläche immer noch 1,5mal höher als die der Steineiche.

Erstaunlich ist dagegen, daß der Gaswechsel der laubabwerfenden Art weniger wärmeempfindlich zu sein scheint als der der Hartlaubart: Das Temperaturoptimum des Netto-Ass.V. von *Qu. pubescens* liegt bei 10 Klx Beleuchtung um 7—8°C höher und das Temperaturmaximum um 3°C höher als Temperaturoptimum und -maximum der Steineichen-Assimilation und auch die Respiration nimmt — wie der Vergleich der Koeffizienten $Q_{10}$ *Quercus pubescens* : *Qu. ilex* wie 1 : 1,16 (s. S. 591) herausstellt — bei der Flaumeiche weniger rasch mit der Temperatur zu. Falls es sich hier nicht um abweichendes Verhalten der Steineiche im Zusammenhang mit der extremen Nordlage ihres Fundortes handelt, wäre denkbar, daß der C-Haushalt der sommergrünen Eichenart auf das Temperaturklima des Sommers (langjähriges Mittel für die Sommermonate: mittl. $7^h$-Temp. in Riva: 20,1°C, mittl. $14^h$-Temp.: 24°C), jener der immergrünen Art auf den Temperaturspielraum des ganzen Jahres abgestimmt ist.

### III. Jahresgang des Assimilationsvermögens bei Immergrünen

Im Laufe der Jahreszeiten und im Zusammenhang mit dem Ausreifen und Altern der Triebe ändert sich das Ass.V. von *Olea* und *Qu. ilex* in

charakteristischer Weise (Abb. 9). Heurige Triebe leisten im Sommer mehr als vorjährige, am meisten jene von *Olea*, die auch das höchste Temperaturmaximum der Netto-Assimilation aufweisen. Bis in den

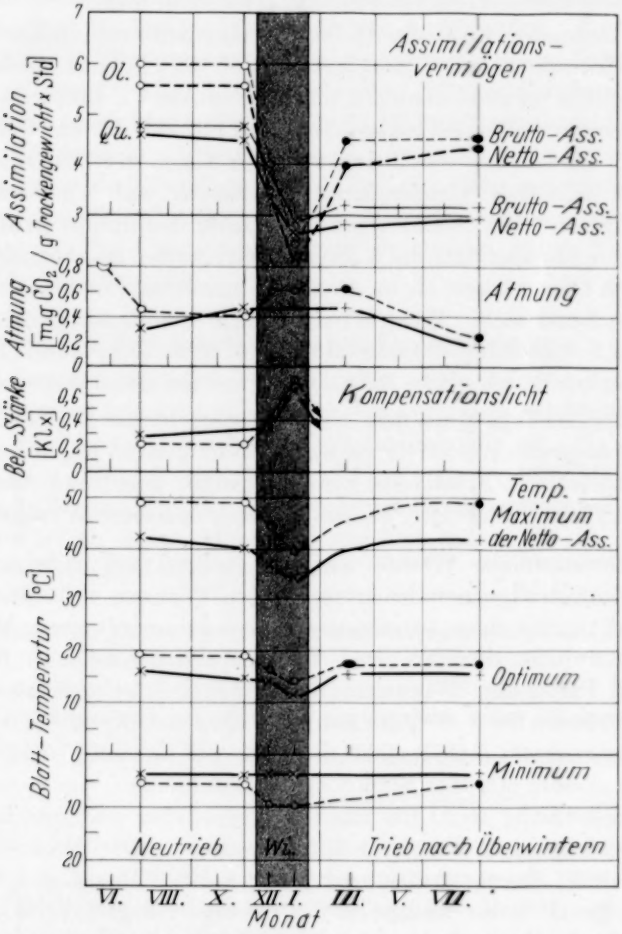



Abb. 9. Verlauf von Netto- und Brutto-Assimilationsvermögen *bei jeweils optimaler* Temperatur und 10 Klx Beleuchtung. Atmung bei 20 °C, Kompensationslicht bei 13 °C und etwa 0,034 Vol.-% $CO_2$, Temperaturoptimum und -maximum der Netto-Assimilation bei 10 Klx und Temperaturminimum bei 3 Klx, alles von *Olea europaea* und *Quercus ilex* im Zuge der Entwicklung eines Neutriebes während seines ersten Lebensjahres. Das *Brutto*-Assimilationsvermögen wurde berechnet, um den Einfluß der Respiration auf das Netto-Assimilationsvermögen beurteilen zu können. Der Zeitraum, in dem in Riva Nachtfröste vorkommen können, ist mit „Wi" bezeichnet und dunkel angelegt. Im Januar Werte des Frosttermins F

November hinein ändert sich bei *Olea* nichts. Auch *Qu. ilex* zeigt noch im November bis zur Optimumtemperatur gutes Netto-Ass.V.; das Respirationsvermögen hat aber seinen niedrigen Sommerstand verlassen

und ist angestiegen. Dadurch wird das Temperaturmaximum heruntergedrückt, die zur Kompensation nötige Beleuchtungsstärke erhöht. Die Steineichenblätter sind im Gegensatz zu *Olea* schon jetzt einige Celsiusgrade kälteresistenter als im Sommer (vgl. Abb. 4a).

Ende Dezember, nachdem die beiden Hartlaubarten einige Frosttage bis —4°C zu spüren bekommen hatten, sich aber in einer nachfolgenden Wärmeperiode erholen konnten, sind Netto-Ass.V., Brutto-Ass.V. und Temperaturmaximum bei beiden Arten auf normalen winterlichen Stand gesunken. Ebenso ist das Temperaturminimum der *Olea*-Assimilation zusammen mit dem Gefrierpunkt der Blätter auf Winterniveau angelangt. Bei *Qu. ilex* bleibt beides im Laufe des Jahres praktisch unverändert, wohl aber hat die Kälteresistenz weiter zugenommen. Jetzt atmet auch *Olea* stärker als im Sommer, ihr Kompensationslichtbedarf ist entsprechend hoch. Während einer Serie von Frosttagen im Januar sinken Ass.V. und Temperaturmaximum auf ihren Tiefststand. Die für die Kompensation erforderliche Beleuchtung ist um diese Zeit am größten.

Im März, 34 Tage nach dem letzten Frost, ist das Brutto-Ass.V. auf jene Höhe angestiegen, auf der es während der ganzen folgenden warmen Jahreszeit bis in den Spätherbst hinein verweilt. Das Netto-Ass.V. bleibt zunächst so lange niedriger, bis die Atmung sommerlich träge wird.

Der jahreszeitliche Wechsel zwischen hohem und niedrigem Ass.V. scheint ziemlich allgemein bei immergrünen Pflanzen verbreitet zu sein, die in Gebieten mit einer warmen und kalten Jahreszeit leben. Wo Nachtfröste vorkommen, dürften diese die Umstellung auslösen. FREELAND (1944) und PISEK und WINKLER (1958) stellten bei Coniferen nach vereinzelten Frösten bis —6°C eine teilweise Einschränkung des Ass.V. fest. Nach TRANQUILLINI (1957) sinkt die Ausbeute der hellen Tagesstunden bei *Pinus cembra* mit der Stärke des Frostes in der vorausgegangenen Nacht. Vollständig wird die Photosynthese aber erst durch mehrere aufeinanderfolgende *Eistage* mit Minima unter —10°C blockiert (TRANQUILLINI 1957, TRANQUILLINI und HOLZER 1958, PISEK und WINKLER 1958). So große Kälte kommt in der warmgemäßigten Klimazone fast nie vor. Deshalb ist nicht zu erwarten, daß die Stoffproduktion im Winter dort ruht.

Von herabgesetzter Assimilation im Winter wird aber doch mehrfach berichtet. BRUNO (1936) fand die Assimilation bei 16 von 20 mediterranen, subtropischen und tropischen Immergrünen des Botanischen Gartens in Palermo im Winter abgeschwächt. KILLIANS (1933) *Pistacia lentiscus* in Algier erzielte Ende Dezember nicht so hohe Assimilationserträge wie nach der Frühjahrsregenzeit. KUSUMOTO (1957a), dem wir Temperaturabhängigkeitskurven des Ass.V. von 12 immergrünen Malakophyllen Südjapans verdanken, weist winterliches Netto-Ass. V.

zwischen 93% *(Camellia japonica)* und 24% des Sommerwertes *(Cinnamomum camphora)* nach. Durchschnittlich werden im Winter im Optimalbereich nur 60—75% der Sommerbeträge erreicht. Kagoshima, der Arbeitsplatz KUSUMOTOS, ist aber im Winter deutlich wärmer als Riva, wenn auch dort in jedem Winter Fröste vorkommen. In Palermo dagegen sinkt die Temperatur nur ein paarmal in jedem Jahrhundert unter den Eispunkt, das mittlere absolute Winterminimum beträgt +1,3°C. Wenigstens hier bedarf es also nicht des Frostes, um das Ass.V. im Winter zu drosseln. Gegen inhärente Winterruhe als Ursache der Winterdepression des Ass.V. spricht, daß die Pflanzen (bei gleicher Temperatur) im Winter kräftiger atmen als in der warmen Jahreszeit[1]. Vielleicht ist bei der Umstimmung auch die Abnahme der Tageslänge im Spiel (MOSCHKOW 1935).

## IV. Das Respirationsvermögen der Immergrünen

Die beiden untersuchten Sklerophyllen sind auffallend sparsame Atmer. Sie atmen ungefähr so schwach wie subtropische (BRUNO 1936, KUSUMOTO 1957a) und tropische immergrüne Holzpflanzen (GABRIELSEN 1931, STOCKER 1935, HARTENBURG 1937, VIEBAHN 1956, KUSUMOTO 1957c). Daß *Olea* und *Qu. ilex* in dieser Hinsicht unter den mediterranen Hartlaubgewächsen keine Ausnahme machen, lassen die in Tabelle 2 angeführten Meßwerte vermuten.

Tabelle 2. *Zweigatmung von immergrünen Mediterranpflanzen aus Riva bei 16°C in mg $CO_2$/g Zweigtrockengewicht · Std.* (Januar 1954)

Versuchsmaterial vor dem Versuch 2 Tage bei 15°C aufgestellt. Mittel aus 3—4 Parallelbestimmungen mit URAS. Die Angaben haben infolgedessen nur die Bedeutung von Stichproben.

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Viburnum tinus* . . . | 0,70 | *Cupressus sempervirens* | 0,52 |
| *Arbutus unedo* . . . . | 0,65 | *Pinus pinea* . . . . . | 0,50 |
| *Laurus nobilis* . . . . | 0,54 | *Cedrus deodara* . . . | 0,32 |

Nach eudiometrischen Messungen von LIETH (1960a, S. 548) bei 16°C. Gewächshauspflanzen, 20. März bis 15. April 1958: *Olea* (LIETH l.c., Abb. 15): <0,3 mg/g·h. *Nerium* (LIETH, l.c., Abb. 14): 0,2 mg/g·h.

Es scheint die Regel zu sein, daß Pflanzen in der Arktis und in der gemäßigten Zone im Durchschnitt lebhafter atmen als solche aus wärmeren Ländern (STOCKER 1935, Tabelle 11, S. 432—433). PISEK und WINKLER haben darüberhinaus eine Zunahme des Resp. V. mit der Meereshöhe nachgewiesen: *Picea excesla* an der Waldgrenze atmet bei gleicher Temperatur 1,6mal so stark wie *Picea* im Tal.

[1] Bei den nordisch-alpinen Coniferen ist die Atmung im Winter i.a. herabgesetzt (PISEK und WINKLER 1958).

Es ist nun denkbar, daß das Resp.V. als Konstitutionsmerkmal auf die Nachttemperatur abgestimmt ist, die am jeweiligen Wuchsort vorherrscht. Unter diesem Gesichtspunkt habe ich in Tabelle 3 den Versuch unternommen, aus eigenen Daten und aus Angaben in der Literatur die Respirationsintensität von Sonnenblättern verschiedener Immergrüner aus verschiedenen Klimagebieten für die dazugehörige mittlere „Juli-Nachttemperatur“[1] zu berechnen[2].

Tabelle 3. *Respiration von Sonnentrieben* (in mg/dm² [doppelseitig]·h) *immergrüner Bäume verschiedener Klimazonen bei 20° C und bei der für den Fundort der betreffenden Pflanze berechneten mittleren Juli-„Nachttemperatur“*

| Pflanze | Fundort | a) Monatsmitteltemperatur Juli | b) Mittl. Min. Juli | $\frac{a+b}{2}$ „mittl. Nachttemp.“ Juli | Atmung bei 20°C | Atmung bei „mittl. Nachttemperatur“ am Fundort im Juli | Autor |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Stelechocarpus burahol* | Buitenzorg 6,6° Süd | — | — | um 25° C (Januar) | ***0,2*** | **0,35** | STOCKER (1935) |
| *Calophyllum inophyllum* | | | | | *0,35* | **0,50** | |
| *Quercus glauca* | Kagoshima 31,6° Nord | 26,7° C | 23,0° C | *24,9° C* | *0,40* | **0,50** | KUSUMOTO (1957a) |
| *Olea europaea* | Riva 45,9° Nord | 23,5° C | 16,6° C | *20,0° C* | *0,42* | **0,42** | Original |
| *Quercus ilex* | | | | | *0,30* | **0,30** | |
| *Picea excelsa* Tal | Innsbruck (etwa 600 m) 47,3° Nord | 17,6° C | 12,1° C | *14,8° C* | *0,54* | **0,36** | PISEK u. WINKLER (1959) |
| Waldgrenze | Patscherkofel (etwa 1880 m) | 9,6° C | 6,7° C | ***8,6° C*** | ***0,86*** | **0,30** | |

Zwischen Nachttemperatur und Resp.V. bei 20° C zeigt sich tatsächlich eine gewisse Gegenläufigkeit. Wird auf die Nachttemperatur ihres

[1] Mittel aus Juli-Mitteltemperatur und mittlerem Temperaturminimum im Juli.

[2] Die Atmung mußte auf die Blattoberfläche bezogen werden, weil nicht alle Autoren die zur Umrechnung auf das Trockengewicht erforderlichen Quotienten angeben. Die Atmungswerte von *Picea* sind über das Verhältnis Trockengewicht: Gesamtoberfläche = 1,08 umgerechnet (nach eigenen Bestimmungen an Bergfichten [LARCHER 1957]; PISEK und TRANQUILLINI 1954 geben für Sonnennadeln der Talfichte als Verhältniszahl 1,05 an).

Lebensraumes bezogen, dann atmen alle verglichenen Arten annähernd gleich stark (0,3—0,5 mg/dm²·h)[1].

Die Tendenz, eine für den Betriebsstoffwechsel besonders günstige Atmungsintensität möglichst aufrechtzuerhalten bzw. nicht wesentlich zu überschreiten, kehrt bei *Olea* und *Qu. ilex* im *Jahresgang* wieder. Sehr wahrscheinlich ist das bei Immergrünen, die den Winter nicht in Ruhe verbringen, ganz allgemein so. Doch mangelt es an systematischen Beobachtungen. Wager (1941) findet in Westgrönland bei manchen Objekten höhere Atmung im Winter. Andersson (1944) verfolgte den Gaswechsel von Winterroggen und -weizen während der Abhärtung und fand langsames Ansteigen der Atmung. Pisek und Knapp (1959) beobachteten an *Hedera helix*, *Asarum europaeum* und *Hepatica triloba* im Winter bei 20°C wesentlich höhere Respiration als im Sommer.

Als Ursache der höheren Atmung im Winter vermuten Wager (1941) und Andersson (1944) die größere Konzentration der Zucker im Zellsaft. Die Ansicht ist einer Überprüfung wert.

Zweifellos hätte die Fähigkeit, bei Kälte den Stoffwechsel besser in Gang zu halten, bei Hitze durch Drosselung des Respirationsvermögens mit den Vorräten sparsamer hauszuhalten, ökologische Bedeutung.

## Zusammenfassung

Um den Jahresgang der photosynthetischen Leistungsfähigkeit und der Atmungsaktivität der mediterranen Hartlaubpflanzen *Olea europaea* ssp. *sativa* und *Quercus ilex* zu verfolgen, wurden in der Zeit von Juli 1958 bis Januar 1960 in *Sommer* (Juli, August), *Herbst* (September, November), *Winter* (Dezember, Januar [vgl. Abb. 3]) und *Frühjahr* (im März vor dem Neuaustrieb) mehrmals die Temperatur- und Lichtabhängigkeit des Assimilationsvermögens (vgl. S. 576) und die Temperaturabhängigkeit der Atmung von Zweigproben geprüft. Im Sommer kam als Vergleichsobjekt die laubabwerfende *Quercus pubescens* dazu.

An geeigneter Stelle bei Riva am Gardasee (Mt. Brione) wurden von den Bäumen Äste abgesägt, diese mit größter Sorgfalt nach Innsbruck befördert und hier im Laboratorium innerhalb von 4 (Sommer) bis 7 (Winter) Tagen bearbeitet. Der $CO_2$-Gaswechsel wurde unter standardisierten Bedingungen untersucht; außerdem wurden der Gefrierpunkt der Blätter, ihre Kälte- und Hitzeresistenz bestimmt.

Ganz allgemein vermag der reife Neuzuwachs im Sommer am meisten zu assimilieren. Bei 22°C und etwa 50000 Lux binden bestens wasserversorgte Zweige von *Olea* pro dm² doppelseitige Blattfläche und Stunde rund 7,8 mg $CO_2$ als Reingewinn; Zweige von *Qu. ilex* rund 6,9 mg $CO_2$ und solche von *Qu. pubescens* rund 6,5 mg $CO_2$. 50000 Lux genügen

[1] An der hohen Atmung der Bergfichte ist möglicherweise noch ein „Hochlagenfaktor" beteiligt (Pisek, mdl.).

nur für *Qu. ilex* zu voller Lichtsättigung (Abb. 5). Die für einen Nettogewinn mindesterforderliche Beleuchtung ist dank der auffallend niedrigen Atmung im Sommer recht gering. Bei den Immergrünen bleibt das Assimilationsvermögen bis in den November hinein unverändert (Abb. 2a, 4a, 9); die laubabwerfenden Bäume mußten über einen Monat früher ihre Vegetationsperiode abschließen.

Mit den ersten Frösten sinkt das Assimilationsvermögen diesjähriger *Olea*-Zweige im Bereich des Temperaturoptimums auf $^2/_3$ des sommerlichen, das von *Qu. ilex* auf $^4/_5$ (Abb. 2b, 4b, 9). Die verminderte photosynthetische Leistungsfähigkeit macht sich besonders bei starker Beleuchtung, also im Sinne eines Starklichtfaktors (GABRIELSEN 1960) bemerkbar (Abb. 5). Temperaturoptimum und -maximum der Netto-Assimilation verschieben sich gleichzeitig gegen niedrigere Temperatur, das Respirationsvermögen steigt auf das 1,3—1,5fache der Sommeratmung des reifen Neutriebs (Abb. 8), folglich nimmt auch der Lichtbedarf für die Kompensation der Atmung zu (Abb. 6).

Nach mehreren aufeinanderfolgenden Frosttagen mit Tagesminima zwischen —2°C und —6°C und Maxima nie über +5°C fällt das Assimilationsvermögen der beiden Sklerophyllen auf sein Jahresminimum. *Qu. ilex* erreicht jetzt bestenfalls 60% der Sommerhöchstleistung, *Olea* 37%. Aber zu völligem Ruhen des Assimilationsvermögens kommt es bei beiden Immergrünen nicht einmal nach 14 Frosttagen, einer selbst im Gardaseegebiet nicht häufigen Situation. Im eigentlichen Mittelmeergebiet sind derartige Kälteperioden äußerst selten. — Einige frostfreie Tage stellen den normalen Winterzustand wieder her. — Unter den beiden Versuchsarten ist *Qu. ilex* besser gegen die Winterkälte ausgerüstet als *Olea*. Die Steineiche erleidet besonders während der Hauptfrostperiode geringere Einbuße im Assimilationsvermögen als der Ölbaum (vgl. Abb. 9), und sie erwirbt im Gegensatz zu *Olea* im Winter die Fähigkeit, wenigstens begrenzte Eisbildung im Gewebe zu überleben.

Nach seiner ersten Überwinterung ist der jüngste Sproßjahrgang physiologisch zum vorjährigen gealtert. Er assimiliert im ganzen kommenden Jahr selbst bei Bezug auf die Oberfläche um 5% *(Olea)* bis 18% *(Qu. ilex)* weniger als im Herbst des Austriebsjahres. Die volle Produktionskraft erlangt der Baum im Frühjahr erst, wenn das neue Laub entwickelt ist, d.h. ab Mitte bis Ende Mai.

Ich möchte nicht versäumen, allen, die mit Rat und Tat am Zustandekommen dieser Arbeit beteiligt waren, für die mir zuteil gewordene Förderung herzlich zu danken: Den Herren Prof. Dr. A. PISEK, Prof. Dr. H. GAMS, Prof. Dr. F. DOTTI, Prof. Dr. R. CIFERRI, Dr. E. WINKLER, Herrn M. A. PERINI, Wetterbeobachter in Riva, sowie der Azienda Autonoma di Cura in Arco. Besonderen Dank schulde ich dem Eigentümer des Ölgartens auf dem Mt. Brione, Herrn F. MONTAGNI. Dem Bundesministerium für Unterricht in Wien danke ich für wertvolle Unterstützung in Form von Reisekostenzuschüssen.

## Literatur


Andersson, G.: Gas change and frost hardening studies in winter cereals. Lund: Håkan Ohlsson 1944.

Audus, L. J.: Mechanical stimulation and respiration rate in the cherry laurel. New Phytologist **34**, 386—402 (1935).

Bauer, Ph.: Geben abgeschnittene Blätter physiologisch richtige Assimilationswerte? Planta (Berl.) **24**, 446—453 (1935).

Bolli, M.: Ricerche sulla respirazione di alcuni organi legnosi dell'olivo. Olearia **5**, 3—10 (1949).

Boysen-Jensen, P.: Über neue Apparate zur Messung von Kohlensäure-Assimilation und Respiration, der Öffnungsweite der Spaltöffnungen und der Belichtungsstärke. Planta (Berl.) **6**, 456—472 (1928).

— Die Stoffproduktion der Pflanzen. Jena: Gustav Fischer 1932.

Bruno, F.: Studio sulla fotosintesi clorofilliana delle piante sempreverdi nel clima del mediterraneo. Lav. R. Ist. Bot. Palermo **7**, 1—154 (1936).

Cartellieri, E.: Jahresgang von osmotischem Wert, Transpiration und Assimilation einiger Ericaceen der alpinen Zwergstrauchheide und von *Pinus Cembra*. Jb. wiss. Bot. **82**, 460—506 (1935).

Ciferri, R.: Dati ed ipotesi sull'origine e l'evoluzione dell'olivo. Olearia **6**, 3—10 (1950).

Clark, J.: Photosynthesis of white spruce and balsam fir. Bimonth. Progr. Rep. Canada Dep. Agr. Sci. Serv. Forest Biol. Div. 12, No 5, 1, 1956.

Dalla Torre, K. W.: Tirol, Vorarlberg und Liechtenstein. Berlin: Junk 1913.

Danilov, A. N., u. V. A. Mirimanjan: Photosynthese der arktischen Pflanzen unter natürlichen Bedingungen. Bot. Exp. **6**, 20—28 (1948). [Russisch.]

Dierrich-Kalkhoff, E.: Flora von Arco. Innsbruck: Wagner 1916.

Eckardt, F.: Rapports entre la grandeur des feuilles et le comportement physiologique chez les xérophytes. Physiol. Plantarum (Cph.) **5**, 52—69 (1952).

Egle, K.: Apparente und reelle Photosynthese, Gaswechselgleichgewicht, Lichtatmung. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V/1, S. 182 bis 210. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Ewart, A. J.: On assimilatory inhibition in plant. J. Linnean Soc. Bot. **31**, 364—461 (1896).

Freeland, R. O.: Apparent photosynthesis in some conifers during winter. Plant Physiol. **19**, 179—185 (1944).

— Effect of age of leaves upon the rate of photosynthesis in some conifers. Plant Physiol. **27**, 685—690 (1952).

Gaastra, P.: Photosynthesis of crop plants as influenced by light, carbon dioxyde, temperature, and stomatal diffusion resistance. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen **59** (13), 1—68 (1959).

Gabrielsen, E. K.: Untersuchungen über die Respirationsintensität der Gewächshauspflanzen. Planta (Berl.) **14**, 217—224 (1931).

— Beleuchtungsstärke und Photosynthese. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V/2, S. 27—48. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Gassner, G., u. G. Goeze: Über den Einfluß der Kali-Ernährung auf die Assimilationsgröße von Weizenblättern. Ber. dtsch. bot. Ges. **50**, 412—482 (1932a).

Gaussen, H.: Théories et classification des climats et microclimats. Rapp. et Comm. 8. Bot. Cgr. Paris, Sect. 7 b, 125—130, sowie Nachtrag Sect. 27, 161—165 (1954).

Giacomini, V., e L. Fenaroli: La Flora. Conosci l'Italia, Bd. 2. Mailand: T.C.I 1958.

GRISEBACH, A.: Die Vegetation der Erde. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1872.

GUTTENBERG, H. v., u. H. BUHR: Studien über die Assimilation und Atmung mediterraner Macchienpflanzen während der Regen- und Trockenzeit. Planta (Berl.) **24**, 163—265 (1935).

HAMDORF, G.: Experimentelle Untersuchungen zur Erfassung der maximalen photosynthetischen Leistung bei Landpflanzen. Flora (Jena) **147**, 521—552 (1959).

HARDER, R.: Über die Assimilation der Kohlensäure bei konstanten Außenbedingungen. II. Das Verhalten von Sonnen- und Schattenpflanzen. Planta (Berl.) **20**, 699—733 (1933).

— P. FILZER u. A. LORENZ: Über Versuche zur Bestimmung der Kohlensäure-Assimilation immergrüner Wüstenpflanzen während der Trockenzeit in Beni Unif. Jb. wiss. Bot. **75**, 45—194 (1931).

HARTENBURG, W.: Der Wasser- und Kohlensäurehaushalt tropischer Regenwaldpflanzen in sommerlicher Gewächshauskultur. Jb. wiss. Bot. **85**, 641—697 (1937).

HEBER, U.: Ursachen der Frostresistenz bei Winterweizen. III. Die Bedeutung von Proteinen für die Frostresistenz. Planta (Berl.) **54**, 34—67 (1959).

KILLIAN, CH.: Recherches écologiques sur les fluctuations saisonnières de l'assimilation chlorophyllienne chez les plantes du maquis algerien. C. R. Acad. Sci. (Paris) **196**, 408—411 (1933).

KÖPPEN, W.: Grundriß der Klimakunde. Berlin u. Leipzig: W. de Gruyter & Co. 1931.

KONIS, E.: The resistance of maquis plants to supramaximal temperatures. Ecology **30**, 425—429 (1949).

KRAMER, P. J., and I. R. DECKER: Relation between light intensity and rate of photosynthesis of loblolly pine *(Pinus taeda)* and certain hardwoods. Plant Physiol. **19**, 350—358 (1944).

KUSUMOTO, T.: Physiological and ecological studies on plant production in plant communities. III. Ecological consideration of the temperature-photosynthesis curves of evergreen broad-leaved trees. Jap. J. Ecol. **7**, 126—130 (1957a).

— IV. Ecological studies on the apparent photosynthesis curves of evergreen broad-leaved trees. Bot. Mag. (Tokyo) **70**, 299—304 (1957b).

— V. On the photosynthesis of broad-leaved evergreen trees in Amani Oshima Island. Bull. Educ. Res. Inst. Kagoshima Univ. **9**, 21—25 (1957c).

LANGE, O. L.: Untersuchungen über Wärmehaushalt und Hitzeresistenz mauretanischer Wüsten- und Savannenpflanzen. Flora (Jena) **147**, 595—651 (1959).

LARCHER, W.: Die Kälteresistenz mediterraner Immergrüner und ihre Beeinflußbarkeit. Planta (Berl.) **44**, 607—635 (1954).

— Frosttrocknis an der Waldgrenze und in der alpinen Zwergstrauchheide auf dem Patscherkofel bei Innsbruck. Veröff. Ferdinandeum Innsbruck **37**, 49—81 (1957).

— Transpiration and photosynthesis of detached leaves and shoots of *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* during desiccation under standard conditions. Bull. Res. Council Israel D 8, 213—224 (1960).

LIETH, H.: Grenzen und Anwendungsmöglichkeiten der colorimetrischen $CO_2$-Bestimmung. Planta (Berl.) **51**, 705—721 (1958).

— Über den Lichtkompensationspunkt der Landpflanzen. I. Mitt. Planta (Berl.) **54**, 530—554 (1960a).

— II. Mitt. Planta (Berl.) **54**, 555—576 (1960b).

MORETTINI, A.: Olivicoltura. Rom: R.E.D.A. 1950.

MÜLLER, D.: Die Kohlensäureassimilation bei arktischen Pflanzen und die Abhängigkeit der Assimilation von der Temperatur. Planta (Berl.) **6**, 22—39 (1928).

Pavletić, Z., u. H. Lieth: Der Lichtkompensationspunkt einiger immergrüner Pflanzen im Winter und Frühjahr. Ber. dtsch. bot. Ges. **69**, 309—314 (1958).

Philippis, A. de: Classificazioni ed indici del clima, in rapporto alla vegetazione forestale italiana. Nuovo G. bot. ital. **44**, 1—169 (1937).

Pisek, A.: Pflanzen der Arktis und des Hochgebirges. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V/2, S. 376—414. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960a.

— Immergrüne Pflanzen. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V/2, S. 415 bis 459. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960b.

—, u. H. Knapp: Zur Kenntnis der Respirationsintensität von Blättern verschiedener Blütenpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **72**, 287—297 (1959).

—, u. G. Rehner: Temperaturminima der Netto-Assimilation von mediterranen und nordisch-alpinen Immergrünen. Ber. dtsch. bot. Ges. **71**, 188—193 (1958).

—, u. W. Tranquillini: Assimilation und Kohlenstoffhaushalt in der Krone von Fichten- (*Picea excelsa* Link) und Rotbuchenbäumen (*Fagus silvatica* L.). Flora (Jena) **141**, 237—270 (1954).

—, u. E. Winkler: Assimilationsvermögen und Respiration der Fichte (*Picea excelsa* Link) in verschiedener Höhenlage und der Zirbe (*Pinus Cembra* L.) an der alpinen Waldgrenze. Planta (Berl.) **51**, 518—543 (1958).

—, u. E. Winkler: Licht- und Temperaturabhängigkeit der $CO_2$-Assimilation von Fichte (*Picea excelsa* Link), Zirbe (*Pinus Cembra* L.) und Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.). Planta (Berl.) **53**, 532—550 (1959).

Pitschmann, H., H. Reisigl u. H. Schiechtl: Bilderflora der Südalpen. Stuttgart: Gustav Fischer 1959.

Polster, H.: Die physiologischen Grundlagen der Stofferzeugung im Walde. München: Bayer. Landw. Verlag 1950.

— Vergleichende Untersuchungen über die Kohlendioxydassimilation und Atmung der Douglasie, Fichte und Weymouthkiefer. Arch. Forstwiss. **4**, 689—714 (1955).

Richardson, S. D.: The effect of leaf age on the rate of photosynthesis in detached leaves of tree seedlings. Acta bot. neerl. **6**, 445—457 (1957).

Rouschal, E.: Wärmehaushalt der Macchienpflanzen. Öst. bot. Z. **87** (1), 42—50 (1938).

Schröter, C.: Flora des Südens. Zürich: Rascher 1936.

Stocker, O.: Assimilation und Atmung westjavanischer Tropenbäume. Planta (Berl.) **24**, 402—445 (1935).

— Grundlagen, Methoden und Probleme der Ökologie. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 411—423 (1957).

Stålfelt, M. G.: Licht- und Temperaturhemmung in der Kohlensäureassimilation. Planta (Berl.) **30**, 384—421 (1939).

— Temperatur. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V/2, S. 100—117. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960a.

— Vorleben, Aktivierung, Inaktivierung, „Ermüdung", Wundreiz. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V/2, S. 186—212. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960b.

Tranquillini, W.: Die Bedeutung des Lichtes und der Temperatur für die Kohlensäureassimilation von *Pinus cembra*-Jungwuchs an einem hochalpinen Standort. Planta (Berl.) **46**, 154—178 (1955).

— Standortsklima, Wasserbilanz und $CO_2$-Gaswechsel junger Zirben (*Pinus cembra* L.) an der alpinen Waldgrenze. Planta (Berl.) **40**, 612—661 (1957).

— Die Stoffproduktion der Zirbe (*Pinus cembra* L.) an der Wandgrenze während eines Jahres. I. Standortsklima und $CO_2$-Assimilation. Planta (Berl.) **54**, 107—129 (1959).

TRANQUILLINI, W., u. K. HOLZER: Über das Gefrieren und Auftauen von Coniferennadeln. Ber. dtsch. bot. Ges. **71**, 143—156 (1958).

VIEBAHN, G.: Assimilation und Atmung tropischer Gewächshauspflanzen im Sommer und Winter. Diss. Darmstadt 1956.

WAGER, H. G.: On the respiration and carbon assimilation rates of some arctic plants as related to temperature. New Phytologist **40**, 1—19 (1941).

WALTER, H.: Die kryoskopische Bestimmung des osmotischen Wertes bei Pflanzen. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. XI/4, S. 353—371. 1931a.

— Die Hydratur der Pflanze. Jena: Gustav Fischer 1931b.

— Die Klimadiagramme als Mittel zur Beurteilung der Klimaverhältnisse für ökologische, vegetationskundliche und landwirtschaftliche Zwecke. Ber. dtsch. Bot. Ges. **68**, 331—344 (1955).

— Die heutige ökologische Problemstellung und der Wettbewerb zwischen der mediterranen Hartlaubvegetation und den sommergrünen Laubwäldern. Ber. dtsch. bot. Ges. **69**, 263—273 (1956).

WILLSTÄTTER, R., u. A. STOLL: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin: Springer 1918.

WINKLER, E.: Die Stoffproduktion der Kartoffelpflanzen im Tal (600 m), im Mittelgebirge (900 m) und an der Waldgrenze (1880 m) bei Innsbruck. Veröff. Ferdinandeum Innsbruck **39**, 5—65 (1960).

YARWOOD, C. E.: Detached leaf culture. Bot. Rev. **12**, 1—56 (1946).

Dr. W. LARCHER,
Botanisches Institut der Universität, Innsbruck, Sternwartestraße 15, Österreich

# Aufnahmebedingungen

*I. Sachliche Anforderungen*

Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigung bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Vorläufige Mitteilungen werden nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellungen der Tatbestände ist zulässig.

*II. Formelle Anforderungen*

Originalarbeiten sollen nicht umfangreicher als zwei Druckbogen (à 16 Druckseiten) sein; Kurze Mitteilungen dürfen den Umfang von vier Druckseiten nicht überschreiten.

Das Manuskript muß leicht leserlich und einseitig geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzureichen, ebenso die Legenden. Die Arbeiten müssen knapp und sprachlich klar geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. *Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen* (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) *herzustellen.*

Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

Für die Rechtschreibung ist die „wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt.

Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse anzufügen. Eine Übersetzung dieser Zusammenfassung in eine andere der Kongreß-Sprachen kann in Petit-Druck hinzugefügt werden, sofern beide Zusammenfassungen nicht mehr als insgesamt $1^1/_2$ Druckseiten beanspruchen.

Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text, oder wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen und angefordert werden kann.

Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige zu beschränken. Knappe Abbildungsunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Unzulässig ist die doppelte Darstellung in Tabelle *und* Kurve. Für Halbtonbilder (Photos, Mikrophotos, Halbtonzeichnungen) sind reproduktionsfähige, d. h. scharfe, gut durchgezeichnete und tonwertreiche Vorlagen (Hochglanzabzüge) einzureichen. Die Beschriftung der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise sind auf einem über die Vorlage geklebten Deckblatt einzureichen. Für schematische Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzungen reproduziert werden sollen, sind saubere, klare Skizzen abzuliefern, die vom Verlag umgezeichnet werden.

*Literaturangaben*, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen (jeweils mit Anfangsbuchstaben des Vornamens) *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und weniger wichtigen Teilen ist für Kleindruck vorzumerken. Autorennamen sollen (für KAPITÄLCHEN-Druck) doppelt, lateinische Namen der Objekte (für *Kursiv*-Druck) geschlängelt unterstrichen werden. In Kursiv-Druck können auch andere Worte des Textes gesetzt werden, die der Autor besonders hervorzuheben wünscht.

Das Zerlegen der Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel nicht die gleichen sind.

Danksagungen können in Form von Fußnoten zum Beitragstitel oder als kurzer Petitabschnitt am Schluß der Arbeit gebracht werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

In der Korrektur sollen nur Druckfehler verbessert, jedoch keine inhaltlichen oder stilistischen Änderungen vorgenommen werden. 10% der Satzkosten übersteigende Korrekturkosten müssen den Autoren in Rechnung gestellt werden.

Handbuch der Pflanzenphysiologie

Encyclopedia of Plant Physiology

Herausgegeben von W. RUHLAND †

In Gemeinschaft mit

E. ASHBY, Belfast · J. BONNER, Pasadena · M. GEIGER-HUBER, Basel · W. O. JAMES, London · A. LANG, Pasadena · D. MÜLLER, Kopenhagen · M. G. STÅLFELT, Stockholm

In 18 Bänden

*Voraussichtlich im Frühjahr 1961 wird erscheinen:*

16. Band

**Außenfaktoren in Wachstum und Entwicklung**

**External factors affecting growth and development**

Redigiert von G. MELCHERS, Tübingen

Mit etwa 183 Abbildungen. Etwa 950 Seiten Gr.-8°. 1961.

(11 Beiträge in englischer und 7 Beiträge in deutscher Sprache)

**Vorbestellpreis gültig bis zum Erscheinen Ganzleinen DM 214,40**

Endgültiger Ladenpreis nach Erscheinen Ganzleinen DM 268,—

Bei Verpflichtung zur Abnahme des Gesamtwerkes gilt der Vorbestellpreis auch nach Erscheinen des Bandes weiter als Subskriptionspreis bis zum Abschluß des Werkes; jedoch ist jeder Band zum Ladenpreis einzeln käuflich

INHALTSÜBERSICHT

Einführung und Übersicht. Von G. MELCHERS, Tübingen · Temperature: Survey. Thermoperiodicity. By F. W. WENT, St. Louis/Missouri, USA. Kältebedürfnis in Wachstum und Entwicklung · Strahlungen: Licht incl. langwelliges Rot. The effects of ultraviolet radiation on plants. By J. A. LOCKHART, Pasadena/Cal., USA, and U. BRODFÜHRER FRANZGROTE, Gauting b. München. Ionizing radiations. Meterwellen. Von J. REINERT, Tübingen · The effect of water supply and humidity on growth and development. By E. WANGERMANN, Leicester, Great Britain · Die mechanischen Wirkungen auf das Pflanzenwachstum. Von F. GESSNER, München · Hydrostatischer Druck und Pflanzenwachstum. Von F. GESSNER, München · Chemische Einflüsse von außen. Chemical influences of other plants (Allelopathy). By M. EVENARI, Jerusalum, Israel. Chemical influences of the environment. By D. J. CARR, Belfast, Northern Ireland · Namenverzeichnis-Author Index · Sachverzeichnis (Deutsch-Englisch), Subject Index (English-German).

**SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG**



Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

Printed in Germany